

Katedra i Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej
Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

lek. Aleksandra Musiała

Rozprawa doktorska

**Biomarkery ogniskowego i segmentalnego kłębuszkowego zapalenia nerek (FSGS)
w optymalnej strategii diagnostyczno-terapeutycznej**

Promotorzy:

dr hab. n. med. Dorota Kamińska

dr hab. n. med. Piotr Donizy, prof. UMW

Wrocław 2023

„Kto chce rozpalać innych, sam musi płonąć”

Ludwik Hirszfeld

Składam serdeczne podziękowania

*Pani Doktor hab. Dorocie Kamińskiej za inspirację, poświęcony czas, wyrozumiałość
i serdeczność,*

*Panu Profesorowi Piotrowi Donizemu za ocenę histopatologiczną bioptatów nerek
i uwagi merytoryczne,*

*Pani Doktor Katarzynie Kościelskiej – Kasprzak za życzliwość, cierpliwość
i wnikliwą analizę każdego zagadnienia,*

Pani Profesor Oktawii Mazanowskiej za bezinteresowną pomoc,

Pani Profesor Magdalenie Krajewskiej za wskazanie drogi naukowej,

oraz wszystkim Pracownikom Kliniki Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej,

bez których życzliwości i pomocy ta praca nigdy by nie powstała.

Mojej Rodzinie

Wykaz zastosowanych skrótów

- 95% CI – 95% przedział ufności (*confidence interval*)
- ACEI – inhibitory konwertazy angiotensyny (*angiotensin converting enzyme inhibitors*)
- AT1R – receptor angiotensyny II typu 1 (*angiotensin II type I receptor*)
- ATN – ostra martwica cewek (*acute tubular necrosis*)
- CLC-1 – kardiolipinopodobna cytokina 1 (*cardiolipin-like cytokine 1*)
- CMV – cytomegalowirus (*cytomegalovirus*)
- DNA – kwas deoksyrybonukleinowy (*deoxyribonucleic acid*)
- DG – dystroglikan (*dystroglycan*)
- dNLR – pochodny współczynnik NLR (*derived-NLR*), stosunek liczebności neutrofilów do różnicy liczebności leukocytów i limfocytów
- eGFR – przesączanie kłębuszkowe (*estimated glomerular filtration rate*)
- ELISA – test immunoenzymatyczny (*enzyme-linked immunosorbent assay*)
- FOXP3 – czynnik transkrypcyjny charakterystyczny dla komórek Treg
- FSGS – ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych (*focal segmental glomerulosclerosis*)
- HIV – ludzki wirus niedoboru odporności (*human immunodeficiency virus*)
- HR – iloraz hazardu (*hazard ratio*)
- IDO-1 – 2,3-dioksygenaza indolaminy (*indoleamine 2,3-dioxygenase*)
- IgAN – nefropatia IgA (*IgA nephropathy*)
- IFN – interferon
- IQR – zakres międzykwartyłowy (*interquartile range*)
- KDIGO – *Kidney Disease Improving Global Outcomes*
- KZN – kłębuszkowe zapalenie nerek
- MCD – submikroskopowe kłębuszkowe zapalenie nerek (*minimal change disease*)
- MDA – dialdehyd malonowy (*malon dialdehyde*)
- MLR – stosunek liczebności monocytów do limfocytów (*monocyte-to-lymphocyte-ratio*)
- MMPs – metaloproteinazy macierzy (*matrix metalloproteinases*)
- MN – błoniaste kłębuszkowe zapalenie nerek (*membranous glomerulonephritis*)
- MSC-Exo – egzosomy pochodzące z mezenchymalnych komórek macierzystych szpiku kostnego
- NAD – dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (*nicotinamide adenine dinucleotide*)
- NGAL – ludzka lipokalina związana z żelatynazą neutrofilii (*neutrophil gelatinase associated lipocalin*)
- NLR – stosunek liczebności neutrofilów do limfocytów (*neutrophil-to-lymphocyte-ratio*)
- NOS – wariant niespecyficzny (*not otherwise specified*)
- PARP-1 – polimeraza poli(ADP-rybozy) 1 (*poly(ADP-ribose) polymerase 1*)
- PAI-1 – inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1 (*plasminogen activator inhibitor-1*)
- PChN- przewlekła choroba nerek
- PLR – stosunek liczebności płytek krwi do limfocytów (*platelet-to-lymphocyte-ratio*)
- POChP – przewlekła obturacyjna choroba płuc
- SD – odchylenie standardowe (*standard deviation*)
- SIRT-1 – sirtuina 1 (*sirtuin 1*)

SLE – toczeń trzewny układowy (*systemic lupus erythematosus*)
suPAR – rozpuszczalna forma receptora urokinazowego aktywatora plazminogenu (*soluble plasminogen activator urokinase receptor*)
TGF- β – transformujący czynnik wzrostu β (*transforming growth factor β 1*)
TIMP – inhibitory tkankowe metaloproteinaz (*tissue inhibitors of metalloproteinases*)
TIN – zmiany zapalno-cewkowe o charakterze przewlekłym (*tubulointerstitial nephritis*)
TNF- α – czynnik martwicy nowotworów α (*tumor necrosis factor- α*)
Treg – komórki T regulatorowe (*regulatory T cells*)
UPCR – stosunek białka do kreatyniny w moczu (*urine protein/creatinine ratio*)
WZW – wirusowe zapalenie wątroby
ZN – zespół nerczycowy

Spis treści

1	Wstęp.....	7
1.1	Podział FSGS według KIDGO.....	7
1.1.1	Pierwotne ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych.....	7
1.1.2	Wtórne ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych.....	7
1.1.3	Ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych uwarunkowane genetycznie..	8
1.1.4	Ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych o nieustalonej przyczynie.	9
1.2	Obraz histopatologiczny.....	9
1.3	Przebieg kliniczny pierwotnego FSGS	10
1.4	Leczenie w pierwotnym ogniskowym i segmentalnym stwardnieniu kłębuszków nerkowych..	10
1.5	Biomarkery pierwotnego FSGS	12
1.5.1	Polimeraza poli(ADP-rybozy) 1 (PARP-1).....	13
1.5.2	2,3-dioksygenaza indolaminy (IDO-1).....	15
1.1.1	Inne, wybrane biomarkery FSGS	18
2	Cel pracy	23
3	Materiał i metody	24
3.1	Materiał kliniczny	24
3.2	Różnicowanie pomiędzy pierwotnym a wtórnym FSGS	24
3.3	Podstawowe dane kliniczne	25
3.4	Standardowe oznaczenia laboratoryjne.....	25
3.5	Wykorzystane definicje według KDIGO [8]	26
3.6	Ocena mikroskopowa bioptatów nerki.....	26
3.6.1	Ocena histopatologiczna.....	26
3.7	Badanie immunohistochemiczne oraz ocena immunopatologiczna ekspresji PARP-1 i IDO-1 w bioptatach nerki	27
3.7.1	Ocena immunopatologiczna ekspresji badanych markerów	28
3.8	Analiza statystyczna.....	29
4	Wyniki	30
4.1	Charakterystyka demograficzna i kliniczna grupy badanej	30
4.2	Leczenie	32
4.3	Porównanie wyników badań laboratoryjnych w grupach pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS w okresie okołobiopsyjnym	33
4.4	Parametry biopsyjne.....	36
4.5	Analiza korelacji pomiędzy poszczególnymi parametrami badania histopatologicznego bioptatów nerek.....	37
4.6	Porównanie parametrów oceny histopatologicznej bioptatów u pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS.....	40
4.7	Zależność między zaawansowaniem zmian histopatologicznych w bioptacie nerek a parametrami laboratoryjnymi	42

4.8	Ekspresja PARP-1 w biopsjach nerek w pierwotnym i wtórnym FSGS	46
4.9	Zaawansowanie zmian histopatologicznych FSGS w zależności od ekspresji PARP-1 w biopsjach nerek	49
4.10	Ekspresja IDO-1 w biopsjach nerek w pierwotnym i wtórnym FSGS	53
4.11	Zaawansowanie zmian histopatologicznych FSGS w zależności od ekspresji IDO-1 w biopsjach nerek	56
4.12	Ocena przebiegu klinicznego choroby w zależności od ekspresji PARP-1 w biopsjach nerek – zależność pomiędzy nasileniem immunoreaktywności a parametrami laboratoryjnymi	59
4.13	Ocena przebiegu klinicznego choroby w zależności od obecności IDO-1 w biopsjach – zależność pomiędzy nasileniem immunoreaktywności a parametrami laboratoryjnymi.....	61
4.14	Ocena przebiegu klinicznego FSGS.....	62
4.14.1	Ocena stanu klinicznego pacjentów po roku od biopsji	62
4.14.2	Analiza zachowania czynności nerek w kilkuletniej obserwacji.....	64
4.14.2.1	Analiza parametrów laboratoryjnych - wpływ na rokowanie	65
4.14.2.2	Analiza parametrów histopatologicznych i ekspresji biomarkerów - wpływ na rokowanie..	67
4.14.2.3	Czynniki prognozujące funkcję nerek u pacjentów z FSGS.....	67
5	Dyskusja	68
5.1	Porównanie grup badanych: pierwotnego i wtórnego FSGS	68
5.1.1	Parametry kliniczne	68
5.1.1.1	Funkcja filtracyjna nerek w okresie okołobiopsyjnym	68
5.1.1.2	Nasilenie białkomoczu w okresie okołobiopsyjnym.....	69
5.1.2	Ocena histopatologiczna biopsji nerek u pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS.....	71
5.2	Znaczenie badanych biomarkerów dla obrazu klinicznego i przebiegu FSGS.	73
5.2.1	PARP-1.....	74
5.2.2	IDO-1.....	75
5.3	Ograniczenia badania	77
6	Wnioski	78
7	Streszczenie	79
8	Summary	83
9	Spis tabel	86
10	Spis rycin.....	88
11	Piśmiennictwo	89

1 Wstęp

Ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków (FSGS, ang. *focal segmental glomerulosclerosis*) jest zaliczane do podocytopatii, charakteryzujących się ogniskową i segmentalną sklerotyzacją pętli włosniczkowych kłębuszków nerkowych. W zależności od typu, FSGS objawia się białkomoczem o różnym nasileniu, od śladowego, aż do zespołu nerczycowego z nasilonymi obrzękami i hipoalbuminemią. W połowie przypadków z krwinkomoczem, niekiedy z towarzyszącym nadciśnieniem tętniczym lub upośledzeniem funkcji filtracyjnej nerek. Obecny podział poszczególnych typów FSGS według *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KDIGO) z 2021 roku wyróżnia FSGS: pierwotny, wtórny, uwarunkowany genetycznie oraz o nieustalonej etiologii [1].

1.1 Podział FSGS według KIDGO

1.1.1 Pierwotne ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych

Pierwotne ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych jest najczęstszą przyczyną zespołu nerczycowego (ZN) u dorosłych w USA [2]. W polskiej populacji osób dorosłych FSGS było drugim najczęstszym rozpoznaniem w biopsji nerki (15% przypadków, 16,2–16,8% zespołu nerczycowego) [3]. W populacji włoskiej FSGS odpowiadał za 12,3% przypadków zespołu nerczycowego, podobnie jak w innych badaniach europejskich [4–6]. Zapadalność na tę chorobę wynosi 1,6–5,3/mln/rok, a objawy FSGS 1,5–2 razy częściej obserwowane są u mężczyzn [3–7].

1.1.2 Wtórne ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych

Wtórne ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych jest rozpoznawane znacznie częściej niż pierwotne. Przyczynami wtórnego FSGS są: zmiany adaptacyjne związane z hiperfiltracją kłębuszków nerkowych (przebiegające ze zredukowaną lub prawidłową liczną czynnych nefronów) lub uszkodzenia podocytów wywołane przez toksyczność leków, zespół hemofagocytowy lub zakażenia wirusowe. We wtórnych typach FSGS zwykle nie stwierdza się zespołu nerczycowego i nie stanowią one wskazania do leczenia immunosupresyjnego [8].

1.1.3 Ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych uwarunkowane genetycznie.

Genetyczne uwarunkowane ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych może ujawnić się, jako choroba sporadyczna lub rodzinna, z dziedziczeniem autosomalnym dominującym, autosomalnym recesywnym, sprzężonym z chromosomem X lub mitochondrialnym. Początek choroby występuje we wczesnym dzieciństwie. Genetycznie uwarunkowany FSGS może być ograniczony do nerek lub być częścią szerszego zespołu z zajęciem pozostałych narządów. Jest zazwyczaj oporny na leczenie glikokortykosteroidami. Genetycznie uwarunkowane postacie FSGS ujawniają się dopiero po nałożeniu się jednocześnie czynników genetycznych i środowiskowych. Najlepiej znanymi zaburzeniami genetycznymi związanymi w FSGS są polimorfizmy G1 i G2 w genie apolipoproteiny L1, (APOL1) u pacjentów pochodzenia afrykańskiego [8–10].

Tabela 1-1. Klasyfikacja FSGS według KDIGO 2021.

Typ	Etiologia		
Pierwotne	Niezidentyfikowane rozpuszczalne czynniki, które prowadzą do uszkodzenia podocytów		
Wtórne	Zmiany adaptacyjne wynikające z hiperfiltracji kłębuszkowej	z prawidłową liczbą nefronów	Otyłość, cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, inne pierwotne typy KZN
		ze zmniejszoną liczbą nefronów	Nefropatia odpływowa, oligomeganeftonia, dysplazja nerki, anemia sierpowato-krwinkowa, podeszły wiek
	Uszkodzenie podocytów	Zakażenia wirusowe: HIV, HCV, CMV, parvovirus B19, SARS-CoV-2, zespół hemofagocytowy	Polekowe: inhibitory mTOR, inhibitory kalcyneuryny, antracykliny, heroina, leki przeciwwirusowe: (ledipaswir, sofosbuwir), lit, IFN, steroidy anaboliczne
Genetycznie uwarunkowane	Rodzinne	Syndromiczne	Sporadyczne
FSGS o nieustalonej przyczynie	brak danych wskazujących na genetyczną lub środowiskową przyczynę		

1.1.4 Ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych o nieustalonej przyczynie.

Niekiedy nie udaje się zidentyfikować genetycznej lub możliwej do zidentyfikowania przyczyny wtórnego FSGS (FSGS-UC, ang. *undetermined cause*). Ta forma FSGS różni się od pierwotnej brakiem zespołu nerczykowego. U jej podłoża leżą prawdopodobnie niepoznane jeszcze przyczyny genetyczne lub środowiskowe [8].

Szczegółowy opis przyczyn etiologicznych poszczególnych typów FSGS przedstawiono w Tabeli 1-1.

1.2 Obraz histopatologiczny

Ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych (FSGS) jest chorobą związaną z uszkodzeniem podocytów. Charakteryzuje się sklerotyzacją pętli włócnickowych kłębuszków nerkowych, która jest ogniskowa i segmentalna.

W mikroskopie świetlnym stwierdza się w kłębuszkach zmiany ogniskowe (obejmujące mniej niż 50% kłębuszków) segmentalne stwardnienia pętli włócnickowych z towarzyszącymi, zrostami pętli z torebką Bowmana. W późniejszej fazie choroby obserwowany jest przybytek macierzy mezangium. Niekiedy występuje przerost pęczków naczyniowych kłębuszków. Natomiast w śródmiaższu stwierdza się krople resorpcyjne w nabłonku cewek proksymalnych. W trakcie progresji choroby może pojawić się śródmiaższowy przewlekły proces zapalny w konsekwencji prowadzący do zaniku cewek i rozwoju włóknienia śródmiaższu.

W mikroskopie elektronowym obserwowane są: rozległe spłaszczenie wyrostków stopowatych podocytów, odwarstwienie podocytów od błony podstawnej kłębuszka oraz transformacja mikrokosmkowa i wakuolizacja podocytów.

W obrazie immunofluorescencyjnym w ogniskach stwardnienia występują złogi C3 lub IgM.

Opublikowana w 2004 roku klasyfikacja Uniwersytetu Columbia wyróżnia pięć wariantów histopatologicznych FSGS: z zapadaniem się światła pętli naczyniowej kłębuszków, wierzchołkowy, komórkowy, przywnękowy i niespecyficzny (*not otherwise specific-NOS*) [7]. Najgorsze rokowanie stwierdza się u pacjentów z wariantem z zapadaniem światła pętli naczyniowej kłębuszków. Szacuje się, że u prawie 70% tych chorych w ciągu 3 lat dojdzie do rozwoju schyłkowej niewydolności nerek [9–14].

Poprzednio uważano, że obserwowane u części pacjentów złogi IgM są wynikiem biernego ich odkładania, jednakże, ich lokalizacja korespondująca z lokalizacją składowych dopełniacza może świadczyć o jego aktywacji. Niedawno wykazano, że pacjenci ze złogami IgM mieli również wyższe stężenia IgM w surowicy reagujące na epitopy komórek śródbłonna kłębuszków. Potwierdza to hipotezę o aktywacji układu dopełniacza przez IgM i może przyczyniać się do uszkodzenia kłębuszków [15].

1.3 Przebieg kliniczny pierwotnego FSGS

U ponad 70% chorych z pierwotnym FSGS występuje zespół nerczycowy o ostrym początku [12]. Do objawów klinicznych pierwotnego FSGS należą: masywne obrzęki, nagły początek białkomoczu nerczycowego, ciężka hipoalbuminemia. U około 30% pacjentów na początku choroby obserwuje się cechy zespołu nefrytycznego: krwinkomocz, upośledzenie funkcji nerek oraz nadciśnienie tętnicze. Jedynie u 5% pacjentów z pierwotnym FSGS obserwowana jest spontaniczna remisja [12]. Pacjenci z białkomoczem nienerczycowym mają dobre rokowanie: jedynie u około 15% chorych z tej grupy dochodzi do rozwoju schyłkowej niewydolności nerek w ciągu 10 lat. Natomiast aż u 50% pacjentów z białkomoczem nerczycowym dochodzi do rozwoju schyłkowej niewydolności nerek w ciągu 5–10 lat [12]. Pacjenci uzyskujący remisję całkowitą mają zdecydowanie lepsze rokowanie, z 10-letnim przeżyciem nerek wynoszącym 90%, w porównaniu do około 35% u pacjentów, którzy nie osiągnęli remisji. Pierwotny FSGS nawraca u 30–40% biorców przeszczepu nerki [2,12,16,17]. W niektórych przypadkach nawrót choroby ma miejsce w ciągu pierwszych godzin po przeszczepieniu nerki [18].

Różnicowanie pomiędzy pierwotnym i wtórnym charakterem ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębuszków nerkowych odbywa się na podstawie przebiegu choroby oraz po wykonaniu wielu badań laboratoryjnych wykluczających przyczynę wtórnego uszkodzenia. Pacjenci z typem wtórnym charakteryzują się powolnym rozwojem białkomoczu nienerczycowego lub nerczycowego bez biochemicznych cech zespołu nerczycowego [8,9].

1.4 Leczenie w pierwotnym ogniskowym i segmentalnym stwardnieniu kłębuszków nerkowych

W zależności od sytuacji klinicznej oraz wyników badań laboratoryjnych ustalane jest postępowanie terapeutyczne. Glikokortykosteroidy stanowią podstawę leczenia, wdrażany jest prednizon 1 mg/kg przez okres trzech miesięcy. Terapię kontynuuje się przez 6 miesięcy

w dawkach zredukowanych w przypadku uzyskania całkowitej lub częściowej remisji. W przypadkach steroidooporności można łączyć małe dawki steroidów z innymi lekami immunosupresyjnymi: cyklosporyną, mykofenolanem mofetylu, cyklofosfamidem, takrolimusem lub sirolimusem.

W przypadkach z białkomoczem subnerczycowym i prawidłową funkcją filtracyjną nerek stosowane są ACEI/sartany oraz wdrażane jest leczenie objawowe: statyny, diuretyki.

Czynnikami warunkującymi pozytywną odpowiedź na leczenie są: szybka remisja białkomoczu i zmiany wierzchołkowe w biopsji diagnostycznej. Natomiast niekorzystnymi czynnikami odpowiedzi na terapię pozostają: nasilony białkomocz, znaczny ubytek funkcji filtracyjnej nerek na początku choroby. Czynnikami niepomyślnymi obserwowanymi w biopsji są: włóknienie śródmiąższowe i występowanie zapadających się pętli [7,12,17,19].

W przypadku braku skuteczności wyżej wymienionych strategii stosowane jest leczenie biologiczne za pomocą rytuksymabu, adalimumabu lub abataceptu [20–24].

Rytuksymab jest chimerycznym mysio-ludzkim przeciwciałem monoklonalnym, które specyficznie wiąże się z antygenem CD20 obecnym na komórkach pre-B i dojrzałych limfocytach B [10]. Przeprowadzono badanie retrospektywne, w którym potwierdzono zarówno skuteczność i bezpieczeństwo rytuksymabu w opornym na leczenie zespole nerczycowym. Badanie przeprowadzono na 3 grupach pacjentów z pierwotnym FSGS, u których wystąpił zespół nerczycowy zależny od steroidów, u pacjentów z zespołem nerczycowym opornym na steroidy i u chorych zespołem nerczycowym, u których występowały częste nawroty. W grupie z zespołem nerczycowym opornym na steroidy uzyskano u 44% remisję, co znacząco wpływało na opóźnienie utraty funkcji filtracyjnej przez nerki. W grupach pacjentów z zespołem nerczycowym zależnym od steroidów i pacjentów z częstymi nawrotami uzyskiwano czas remisji 6,3 miesiąca. W grupie chorych z zespołem nerczycowy steroidoopornym czas remisji wyniósł 10,3 miesiąca. Autorzy podkreślają konieczność przeprowadzenia badań z randomizacją w celu dokładniejszego określenia roli rytuksymabu [25].

Adalimumab jest w pełni ludzkim przeciwciałem monoklonalnym skierowanym przeciwko ludzkiemu czynnikowi martwicy nowotworów α (TNF- α , ang. *tumor necrosis factor α*). Adalimumab jest stosowany w opornym na leczenie FSGS od 2014 roku. Wówczas lek ten został zastosowany u 5 pacjentów z pierwotnym FSGS opornym na leki immunosupresyjne. Po 6 miesiącach leczenia nie obserwowano białkomoczu, a funkcja filtracyjna nerek pozostawała

stabilna. Od tego czasu publikowanych jest coraz więcej badań dotyczących stosowania adalimumabu w leczeniu opornego FSGS z dobrym efektem [26,27].

Abatacept to rekombinowane białko fuzyjne, składające się z domeny pozakomórkowej ludzkiego antygeny CLTA-4 (ang. *cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4*), połączonej ze zmodyfikowanym fragmentem Fc immunoglobuliny ludzkiej G1 (IgG1), które jest inhibitorem cząsteczki kostymulującej limfocytów T B7-1 (CD80). Lek ten jest stosowany głównie w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów. Przeprowadzono badania, które wykazały, że kostymulacja cząsteczek B7-1 w obrębie podocytów prowadzi do rozwoju zespołu nerczykowego. W badaniach *in vitro* z wykorzystaniem podocytów, udowodniono, że ekspresja B7-1 w podocytach wzrasta wraz ze stymulacją czynnikami zewnętrznymi. Abatacept może znacząco hamować tę ekspresję. Przeprowadzono badania u pięciu pacjentów z FSGS, u których występował steroidooporny FSGS lub często nawracający FSGS, również po przeszczepie nerki. W badaniu immunofluorescencyjnym bioptatu nerki u wszystkich tych pacjentów obserwowano znaczną ekspresję cząsteczek B7-1. Po leczeniu abataceptem u wszystkich chorych uzyskano remisję kliniczną. Po tych wstępnych doniesieniach wykonywano kolejne badania, oceniające skuteczność abataceptu w FSGS uzyskując niejednoznaczne wyniki [28–30].

1.5 Biomarkery pierwotnego FSGS

Dotychczas nie ustalono etiologii pierwotnego FSGS. Przypuszcza się, że za powstanie choroby odpowiadają rozpuszczalne, niezidentyfikowane czynniki, które prowadzą do uszkodzenia podocytów, z zatarciem wyrostków stopowatych podocytów i białkomoczem [31].

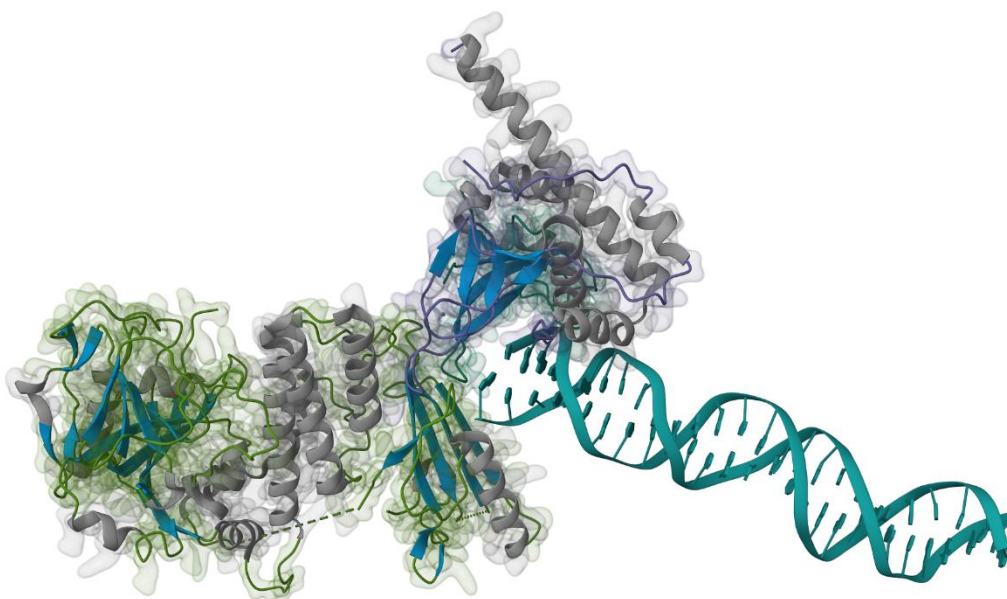
Duża częstość nawrotów białkomoczu w alloprzeszczepie nerki sugeruje obecność takiego czynnika krążącego u biorców z pierwotnym FSGS w nerkach własnych. Hipotezę tę potwierdza fakt, że wykonanie plazmaferezy zmniejsza białkomocz i ogranicza przepuszczalność kłębuszków nerkowych. Wiadomo, że antygeny zlokalizowane na podocytach mogą odgrywać kluczową rolę w inicjacji i progresji zmiany obserwowanej w FSGS [31,32]. Jako potencjalne czynniki krążące zaproponowano: rozpuszczalny receptor aktywatora plazminogenu typu urokinazy (suPAR) oraz kardiolipinopodobną cytokinę 1 (CLC-1). Ponadto przeprowadzono wiele badań, w których próbowano ustalić, które cząsteczki mogą być związane z uszkodzeniem podocytów w patogenezie FSGS. Badania obejmowały takie cząsteczki jak: inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1 (PAI-1), receptory angiotensyny II

typu 1 (AT1R), dystroglikan (DG), mikroRNA, metaloproteinazy (MMPs), czynnik transkrypcyjny FOXP3, polimeraza poli(ADP-rybozy) 1 (PARP-1) [18,33–36].

Niektóre biomarkery były również badane w kontekście progresji uszkodzenia nerek. Należą do nich: transformujący czynnik wzrostu β (TGF- β), ludzka lipokalina związana z żelatynazą neutrofilii (NGAL), dialdehyd malonowy (MDA) i inne [11,37,38].

1.5.1 Polimeraza poli(ADP-rybozy) 1 (PARP-1)

Polimeraza poli(ADP-rybozy) 1 (PARP-1, Rycina 1-1) jest białkiem jądrowym, które reguluje ekspresję genów, jako koaktywator transkrypcji i funkcji białek poprzez poli(ADP-rybozylację). Poli(ADP-rybozylacja) wywiera wielopłaszczyznowy wpływ na funkcję białek, zarówno poprzez ich aktywację jak i hamowanie. Aktywacja polimerazy poli(ADP-rybozy) odgrywa rolę w patofizjologii różnych chorób związanych ze stresem oksydacyjnym, bierze udział w ostrej i przewlekłej reakcji zapalnej. Poza tym PARP-1 uczestniczy w naprawie uszkodzonego DNA i utrzymuje integralność genomu [39–41].



Rycina 1-1. Struktura molekularna kompleksu PARP-1 z uszkodzoną nicią DNA. Rycina opracowana w oparciu o dane strukturalne zdeponowane w *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank* (rcsb.org, ID 4DQY) [42] za pomocą narzędzi interaktywnych dostępnych w powyższej bazie danych.

W różnych dziedzinach medycyny przeprowadzono wiele badań z udziałem PARP-1, jako cząsteczki wielofunkcyjnej o potencjale terapeutycznym.

W onkologii wykazano, że podwyższona ekspresja PARP-1 jest niezależnym negatywnym czynnikiem prognostycznym w czerniakach błony śluzowej [40]. Ekspresja jądrowo-cytoplazmatycznego PARP-1 była również niekorzystnym markerem prognostycznym we wczesnym raku piersi bez przerzutów do węzłów chłonnych [41]. Aktywacja PARP-1 jest odpowiedzialna za indukowaną cisplatyną śmierć komórek i uszkodzenie tkanek przez stres oksydacyjny. Mukhopadhyay i wsp. sugerują, że hamowanie PARP-1 może zapobiegać nefrotoksyczności powstałej w wyniku leczenia cisplatyną [43]. W neurologii inhibitor PARP-1 został opisany jako terapia wspomagająca leczenia we wczesnym stadium choroby Alzheimera [44]. W kardiologii farmakologiczne hamowanie PARP-1 może wywierać korzystny wpływ na łagodzenie niedokrwienia mięśnia sercowego, różnych typów niewydolności serca, kardiomiopatii, wstrząsu kardiogenego, oraz powikłań sercowo-naczyniowych związanych z cukrzycą [45].

W alloprzeszczepach nerki ekspresja PARP-1 była dodatnio skorelowana ze stężeniem kreatyniny w surowicy krwi badanym w dniu wykonania biopsji, jak również z opóźnioną funkcją przeszczepu [46].

Z drugiej strony uważa się, że inaktywacja PARP-1 ma działanie ochronne poprzez zmniejszenie włóknienia śródmiąższowego wywołanego uszkodzeniem niedokrwienno-reperfuzyjnym w nerkach myszy [47]. Zostało to również potwierdzone w badaniu eksperymentalnym Zhenga i wsp., w którym wykazano, że zablokowanie genu kodującego PARP-1 chroni nerki przed uszkodzeniem niedokrwienno-reperfuzyjnym [48]. Ważną rolę PARP-1 w przewlekłych zaburzeniach czynności nerek opisali Słomińska i wsp., którzy zaobserwowali podwyższone poziomy nikotynamidów: Met2PY i Met4PY w osoczu dzieci z przewlekłą chorobą nerek. Wysokie poziomy Met2PY i Met4PY hamują aktywność PARP-1. Zaproponowano, że opisany powyżej mechanizm wywierał korzystny wpływ i chronił komórki nerki przed uszkodzeniem wywołanym stresem oksydacyjnym prowadzącym do apoptozy komórek. Wysunięto hipotezę, że metabolity nikotynamidu mogą działać ochronnie w krótkim okresie, podczas gdy przewlekła ekspozycja jest prawdopodobnie szkodliwa z powodu upośledzenia mechanizmu naprawy DNA [49]. Podobne obserwacje opublikowali Hasegawa i wsp. na modelu mysim FSGS indukowanym adriamycyną [39].

Na modelach mysich kłębuszkowych zapaleń nerek (toczniowego oraz anti-GBM), wykazano, że PARP-1 jest aktywowany w przebiegu kłębuszkowego zapalenia nerek, a jego

farmakologiczne hamowanie powodowało zmniejszenie reakcji zapalnej i rozległości zmian martwiczych oraz wyższymi wskaźnikami przeżycia. PARP-1 regulował również ekspresję TNF- α i powodował wzrost ekspresji cząstek adhezyjnych [50]. Inni badacze wykazali, że angiotensyna 2 znacząco indukowała ekspresję i aktywność PARP-1 w obrębie komórek mezangium kłębuszków szczerów oraz zwiększała ekspresję PAI-1 i fibronektyny. Sugeruje to, że PARP-1 pośredniczy w efekcie wywieranym przez angiotensynę na komórki mezangium, zatem może stanowić potencjalny cel terapeutyczny w leczeniu kłębuszkowych zapaleń nerek [50]. Wykazano też, że efekt działania PARP-1 w nerkach może być częściowo hamowany przez estradiol [51].

Z kolei badania całego genomu wykazały, że PARP-1 był krytycznie obniżony u pacjentów z nefropatią IgA (IgAN) i plamicą Schönleina-Henocha, co sugeruje, że PARP-1 może być wykorzystany jako potencjalny biomarker choroby [51]. Nie ma opublikowanych badań dotyczących bezpośredniej korelacji między PARP-1 a indukowaniem FSGS. Niemniej jednak PARP-1 jest cząsteczką, która wpływa na szkodliwe procesy związane ze stresem oksydacyjnym i reakcją zapalną. Powyższe badania sugerują, że może to być ważny mechanizm inicjujący niewydolność nerek w przebiegu FSGS.

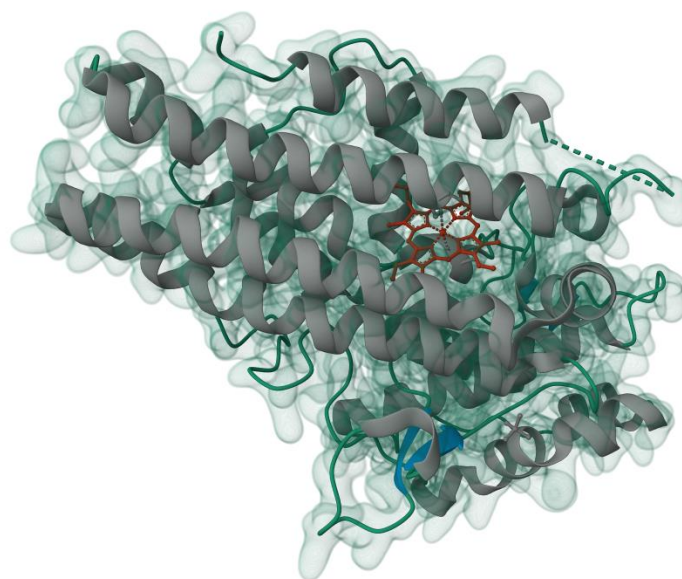
1.5.2 2,3-dioksygenaza indolaminy (IDO-1)

2,3-dioksygenaza indolaminy (IDO-1, Rycina 1-2) jest enzymem cytoplazmatycznym, biorącym udział w metabolizmie tryptofanu. Jest wytwarzany przez komórki w odpowiedzi na stan zapalny i wywiera działanie immunosupresyjne oraz pobudza mechanizmy tolerancji immunologicznej. IDO-1 wygasza odpowiedź limfocytów poprzez 2 ścieżki:

- jako enzym katabolizujący na początku kinureninowego szlaku tryptofanu, kontroluje tempo metabolizmu tryptofanu, prowadząc do zmniejszenia jego stężenia, co skutkuje zahamowaniem podziałów limfocytów;
- poprzez produkty reakcji: kinureniny i ich pochodne, które indukują apoptozę limfocytów T i dodatkowo hamują ich różnicowanie [52,53].
- IDO-1 jest głównie aktywowany przez interferon γ , ale modyfikacja jego działania jest również możliwa poprzez wiele innych molekuł, takich jak interleukiny (IL-1, IL-10) aniony ponadtlenkowe i lipopolisacharydowe [54,55].

Wiadomo, że zaburzenie metabolizmu tryptofanu jest powszechne w przewlekłej chorobie nerek, jednak dokładny mechanizm działania nie jest do końca poznany. Katabolizm

tryptofanu przez 2,3-dioksygenazę indoloaminy (IDO-1) prowadzi do powstania wielu biologicznie aktywnych metabolitów zaangażowanych w progresję przewlekłej choroby nerek. W 2021 Pan i wsp. przeprowadzili badanie korelacji między IDO-1, a zwłóknieniem nerek po uszkodzeniu niedokrwienno-reperfuzyjnym oraz u myszy poddanych jednostronnej niedrożności moczowodu [56]. Autorzy wykazali, że podanie środków zmniejszających ekspresję IDO-1 (1-MT lub BMS-985205) powodowało zmniejszenie zwłóknienia poprzez zmniejszenie ekspresji kolagenu typu 1, fibronektyny i α -aktyny mięśni gładkich. Oba inhibitory znacznie zmniejszyły również włóknienie śródmiąższowe u myszy poddanych jednostronnej niedrożności moczowodu [56].



Rycina 1-2. Struktura molekularna 2,3-dioksygenazy indoloaminy (IDO-1) z hemowym ligandem (holoenzym). Rycina opracowana w oparciu o dane strukturalne zdeponowane w *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank* (rcsb.org, ID 6AZU) [57] za pomocą narzędzi interaktywnych dostępnych w powyższej bazie danych.

Jedną z głównych przyczyn ostrego uszkodzenia nerek jest uszkodzenie niedokrwienno-reperfuzyjne. Może ono być całkowicie odwracalne, jednak u części pacjentów z umiarkowanym i ciężkim przebiegiem choroby dochodzi do rozwoju przewlekłej choroby nerek z powodu nieodwracalności tych procesów. W 2022r. Xie i wsp. przeprowadzili ocenę wpływu egzosomów pochodzących z mezenchymalnych komórek macierzystych szpiku kostnego (MSC-Exo) z nadekspresją 2,3-dioksygenazy indoloaminy (IDO-1) na niepełną naprawę tkanek u myszy po uszkodzeniu niedokrwienno-reperfuzyjnym. MSC-Exo mogą bezpośrednio przenosić się do komórek kanalików nerkowych. Po zastosowaniu MSC-Exo,

powrót funkcji nerek po uszkodzeniu niedokrwienno-reperfuzyjnym był obserwowany znacznie szybciej. W przypadku użycia MSC-Exo z nadekspresjąIDO-1 (MSC-Exo-IDO-1) przyspieszeniu ulegały również następujące procesy: proliferacja komórek kanalików nerkowych, hamowanie apoptozy komórek kanalików nerkowych, włóknienia i wydzielania czynników zapalnych podczas procesu samonaprawy. Wdrożenie obu plazmidów (samego MSC-Exo-NC oraz z nadekspresjąIDO-1) sprzyjała polaryzacji populacji makrofagów M1 do makrofagów M2, prowadząc do większej produkcji czynników przeciwzapalnych, a następnie zmieniała mikrośrodowisko zapalne komórek kanalików nerkowych, co ułatwiało samonaprawę u myszy z uszkodzeniem niedokrwienno-reperfuzyjnym [58].

Również Pan i wsp. przeprowadzili badanie pilotażowe w 2021r., w którym porównano aktywnośćIDO-1 obliczoną na podstawie stosunku kinureniny do tryptofanu między pacjentami z przewlekłą chorobą nerek i pacjentami bez przewlekłej choroby nerek. Obserwowano dodatnią korelację między aktywnościąIDO-1 a stadiami przewlekłej choroby nerek – wyższa aktywnośćIDO-1 była obserwowana w stadium 4 i 5. Wykazano także dodatni współczynnik korelacji eGFR iIDO-1. Autorzy wykazali, żeIDO-1 było niezależnym czynnikiem wpływającym na eGFR i stosunek albuminuria/kreatyniny i może być stosowany jako biomarker do oceny postępu przewlekłej choroby nerek [59]. Podobne obserwacje wykazujące związekIDO-1 z postępowaniem niewydolności nerek w cukrzycowej chorobie nerek opublikowali Zhang i wsp. [60]. AktywnośćIDO-1 była także oceniana w chorobach nowotworowych z niejednoznacznym wpływem na rokowanie długoterminowe [61].

Komórki dendrytyczne zdolne do ekspresjonowania funkcjonalnegoIDO-1 mogą hamować efektorowe limfocyty T poprzez zużywanie tryptofanu i/lub wytwarzanie toksycznych metabolitów oraz promowanie różnicowania w kierunku komórek regulatorowych (Treg), co wykazuje działanie immunosupresyjne. W mysim modelu IgAN po reinfuzji komórek dendrytycznych z nadekspresjąIDO-1 wzrósł odsetek Treg oraz zmniejszyła się ekspresja cytokin prozapalnych, zawartość włókien kolagenowych i cechy uszkodzenia oraz odkładanie IgA w mezangium kłębuszków nerkowych ze zmniejszeniem białkomoczu [62,63]. Na modelu mysim obserwowano, że ekspresjaIDO-1 oraz jej aktywność enzymatyczna była znacznie wyższa u myszy z indukowanym toczniem rumieniowatym układowym. Co ciekawe, hamowanie farmakologiczneIDO-1, ale nie niedobórIDO-1, spowodowało zmniejszenie wiązania czynnika dopełniacza C3 w kłębuszkach nerkowych, co sugeruje potencjalne korzyści terapeutyczne hamowaniaIDO-1 u pacjentów z toczniem z zajęciem nerek [64].

Na mysim modelu nefrotoksycznego zapalenia nerek wykazano, że reakcja zapalna prowadząca do uszkodzenia nerek była hamowana przez metabolizm aminokwasów i pobudzenie autofagii. Sygnał metaboliczny był aktywowany przez indukcjęIDO-1 za pośrednictwemIFN- γ . Zwiększenie aktywnościIDO-1 w nerkach indukowało autofagię i chroniło myszy przed nefrotoksycznym uszkodzeniem nerek. Autorzy sugerują, żeIDO-1 w komórkach mezangium jest istotnym mechanizmem ujemnego sprzężenia zwrotnego, który ogranicza zapalne zmiany patologiczne nerek poprzez indukowanie autofagii [65].

W modelach doświadczalnych autoimmunologicznego kłębuszkowego zapalenia nerek wykazano, że hamowanie katabolizmu tryptofanu za pośrednictwemIDO-1 przyspiesza postęp autoimmunologicznego KZN oraz indukowanego KZN z tworzeniem półksiężyców [65,66]. Dotychczas nie przeprowadzono badań dotyczących wpływuIDO-1 na rozwój i postęp FSGS.

1.1.1 Inne, wybrane biomarkery FSGS

Jako proponowane czynniki krążące, prowadzące do uszkodzenia podocytów zaproponowano suPAR oraz CLC-1. Przeprowadzono wiele badań na zwierzętach oraz badano wyżej wymienione parametry w surowicy i moczu pacjentów z FSGS.

Dostępna literatura próbująca ustalić rolę rozpuszczalnego receptora aktywatora plazminogenu typu urokinazy (suPAR) w indukcji FSGS jest niejednoznaczna. Istnieją publikacje, które potwierdzają, że suPAR może być użytecznym markerem dla FSGS, a jego wyższe stężenie jest czynnikiem predykcyjnym dla progresji do schyłkowej niewydolności nerek oraz wskaźnikiem oporności choroby na leczenie. W części publikacji stwierdzono, że suPAR może być użytecznym markerem podocytopatii związanej z FSGS, ale niekoniecznie czynnikiem zwiększenia przepuszczalności krążącym. Poza tym wykazano, że suPAR nie może być wykorzystywany w diagnostyce różnicowej między pierwotnym i wtórnym FSGS oraz pomiędzy FSGS a innymi glomerulopatiami [16,67–75].

Eksperymentalne badania kardiolipinopodobnej cytokiny 1 (CLC-1) na wyizolowanych kłębuszkach szczurzych przy użyciu testu przepuszczalności albuminy *in vitro* (P(alb)), wykazały, że heterodimer CLCF1-CRLF1 poprzez hamowanie szlaku JAK2/STAT3 może chronić barierę filtracyjną kłębuszka [76].

Wykaz proponowanych czynników krążących, opis grup badanych i wykaz publikacji przedstawia Tabela 1-2.

Potencjalne biomarkery, które mogą uczestniczyć w uszkodzeniu podocytów oraz śródmiaższu prowadząc do rozwoju FSGS mają działanie wielopłaszczyznowe. Część z nich może być wykorzystana jako czynnik prognostyczny schyłkowej niewydolności nerek w FSGS, a część różnicować FSGS z innymi glomerulopatiami.

Tabela 1-2. Proponowane krążące czynniki przesączalne w patogenezie FSGS.

	Biomarkery	Populacja	Bibliografia
Eksperymentalny	suPAR	trzy modele mysie	[16]
		hodowle ludzkich podocytów i dwa modele mysie	[67]
		modele mysie	[68]
suPAR kliniczny	suPAR w osoczu (ELISA)	pacjenci z FSGS, MCD, MN, stanem przedrzucawkowym	[16]
	suPAR w osoczu (ELISA,TR-FIA)	pacjenci z pierwotnym FSGS, inne KZN	[69]
	suPAR w osoczu (ELISA)	pacjenci z pierwotnym, wtórnym FSGS, MCD, MN	[70]
	suPAR w osoczu (ELISA)	pacjenci z pierwotnym FSGS (PodoNet)	[16]
	suPAR w osoczu (ELISA)	pacjenci z pierwotnym FSGS	[71]
	suPAR w osoczu (ELISA)	pacjenci z pierwotnym, wtórnym FSGS, z nawrotowym FSGS po KTx, inne KZN	[71]
	suPAR w osoczu i moczu (ELISA)	pacjenci z pierwotnym, wtórnym FSGS	[72]
	suPAR w osoczu i moczu (ELISA)	pacjenci z KZN (Neptun cohort)	[68]
	Stężenie suPAR w osoczu (ELISA)	nie-FSGS PChN, FSGS w aktywnym stadium, FSGS w remisji	[73]
	Stężenie suPAR w osoczu (ELISA)	FSGS	[74]
	suPAR w osoczu i moczu przed przeszczepieniem (ELISA)	biorcy nerek	[75]
	CLC-1 (eksperymentalne)	model szczurzy	[76]

Wykazano, że przeciwciała przeciwko receptorom angiotensyny II typu 1 (AT1R) prowadzą do uszkodzenia podocytów, a u zwierząt indukują potransplantacyjny FSGS [77]. Przedstawiono związek wzrostu ekspresji AT1R w alloprzeszczepie nerki z istotnie wyższym ryzykiem utraty przeszczepu. Poza tym w dostępnej literaturze opisano, że stężenie przeciwciała AT1R w surowicy było podwyższone u chorych z nawrotem FSGS po KTx, poza tym allel typu D genu ACE jest czynnikiem ryzyka progresji do schyłkowej niewydolności nerek u pacjentów z FSGS [77–82].

Metaloproteinazy (MMPs) oraz inhibitory tkankowe metaloproteinaz (TIMP) uczestniczą w przebudowie macierzy zewnątrzkomórkowej, prowadząc do włóknienia, istotnego procesu obserwowanego w FSGS. Wykazano ich podwyższoną ekspresję w podocytach podczas stanu zapalnego oraz obserwowano większe stężenie poziomu MMPs i TIMP u pacjentów z FSGS, co może pomagać w różnicowaniu FSGS z innymi glomerulopatiami. Podobne zastosowanie mogą mieć dystroglikany (DG), których zwiększoną ekspresję wykazano w biopsjach nerki u pacjentów z FSGS [83–92].

MicroRNAs (miR-192 and miR205, miR-186) również mogą być przydatne w różnicowaniu FSGS z innymi glomerulopatiami oraz mogą być czynnikiem prognostycznym opóźnionej czynności przeszczepu. W przeprowadzanych badaniach wykazano, że nadekspresja miR-193a indukuje uszkodzenie wyrostków stopowanych podocytów; a poziomy miR-192 i miR-205 w surowicy podwyższone u pacjentów z FSGS w porównaniu z pacjentami z MCD [93–95].

Zahamowanie inhibitora aktywatora plazminogenu typu 1 (PAI-1) prowadzi do wytwarzania plazminy i stwardnienia kłębuszków nerkowych. Opisano, że ekspresja mRNA PAI-1 jest skorelowana z poziomem białkomoczu w KZN (MCD, FSGS, IgAN, MN), a ekspresja kłębuszkowego mRNA PAI-1 była istotnie wyższa u pacjentów z MCD i FSGS [90,92–95].

Na poziomie genu w procesy indukujące FSGS mogą być zaangażowane transformujący czynnik wzrostu β (TGF- β) oraz FOXP3. Oba biomarkery mogą być wykorzystywane jak czynniki prognostyczne rozwoju schyłkowej niewydolności nerek w FSGS. FOXP3, jako czynnik transkrypcyjny, wpływa na utrzymanie fenotypu i funkcji regulatorowych Treg, które odgrywają rolę w patogenezie proliferacyjnych postaci KZN, także tych z formowaniem półksiężyców. Natomiast TGF- β powoduje promowanie apoptozy podocytów, przybytek macierzy mezangialnej, przerost kłębuszków nerkowych oraz nagromadzenie macierzy pozakomórkowej w kanalikach i włóknienie śródmiąższowe w nerkach [96–106].

Dialdehyd malonowy (MDA) jako biomarker stresu oksydacyjnego powoduje peroksydację lipidów może być wykorzystany jako czynnik prognostyczny stwardnienia kłębuszków nerkowych w FSGS. Wykazano jego niższy poziom w osoczu i kłębuszkach nerkowych u pacjentów z FSGS z prawidłową czynnością nerek. Natomiast do kontroli zmian w obrębie śródmiaższu może być wykorzystana ludzka lipokalina związana z żelatynazą neutrofilii (NGAL). Gromadzi się ona w kanalikach proksymalnych, a poziom jej ekspresji NGAL koreluje ze stopniem uszkodzenia nerek [38,107–116].

Tabela 1-3. Potencjalne biomarkery postępu FSGS.

Biomarker	Znaczenie kliniczne	Bibliografia
Receptory angiotensyny II typu 1 (AT1R)	czynnik prognostyczny potransplantacyjnego FSGS i utraty przeszczepu; czynnik prognostyczny PCHN	[77–82]
Metaloproteinazy (MMPs)/ inhibitory tkankowe metaloproteinaz (TIMP)	różnicowanie FSGS z innymi glomerulopatiami	[83–88]
Dystroglikany (DG)	różnicowanie FSGS z innymi glomerulopatiami	[89–92]
MicroRNAs (miR-192 and miR205, miR-186)	czynnik prognostyczny opóźnionej funkcji przeszczepu różnicowanie FSGS z innymi glomerulopatiami	[93–95]
Inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1 (PAI-1)	potencjalna rola w rozwoju KZN	[90,91,93–95]
Forkheadbox P3 (FOXP3)	czynnik prognostyczny czynności przeszczepu nerki;	[94][95]
Transformujący czynnik wzrostu β (TGF- β)	czynnik prognostyczny niewydolności nerek w FSGS; czynnik prognostyczny odpowiedzi na leczenie steroidami	[96–106]
Ludzka lipokalina związana z żelatynazą neutrofilii (NGAL)	czynnik prognostyczny niewydolności nerek; biomarker zmian śródmiaższowych w FSGS	[108–116]
Malondialdehyd (MDA)	czynnik prognostyczny stwardnienia kłębuszków nerkowych w FSGS	[38,115]

W Tabeli 1-3 przedstawiono pozostałe biomarkery ich mechanizm patofizjologiczny oraz wykaz badań.

Lepsze zrozumienie patogenezы FSGS oraz roli różnych cząsteczek w patologii uszkodzenia podocytów może prowadzić do wdrożenia terapii ukierunkowanej na etiologię. Plejotropowy mechanizm działania przedstawionych biomarkerów (immunomodulacja, modyfikacja ekspresji genów, udział w procesie stresu oksydacyjnego lub przebudowie macierzy komórkowej) wskazuje, że uszkodzenie podocytów jest wynikiem wielu równoległych heterogenicznych procesów metabolicznych.

2 Cel pracy

Celem przeprowadzonego badania było:

1. Określenie znaczenia prognostycznego ekspresji tkankowej białek PARP-1 i IDO-1 dla progresji niewydolności nerek u pacjentów z FSGS
2. Określenie znaczenia ekspresji tkankowej białek PARP-1 i IDO-1 dla różnicowania pomiędzy pierwotnym a wtórnym FSGS.
3. Określenie związku pomiędzy ekspresją tkankową PARP-1 i IDO-1 oraz parametrami oceny histopatologicznej bioptatu, a nasileniem białkomoczu w okresie biopsji.
4. Określenie czynników klinicznych i parametrów histopatologicznych prognozujących przebieg kliniczny pierwotnego i wtórnego FSGS.
5. Określenie związku między parametrami oceny histopatologicznej, a czynnością nerek w czasie biopsji.

3 Materiał i metody

3.1 Materiał kliniczny

Do retrospektywnego badania zostali włączeni pacjenci pozostający pod opieką Kliniki Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu z potwierdzonym histopatologicznie uszkodzeniem kłębuszków o typie FSGS, u których biopsję ze wskazań klinicznych wykonano w latach 2012-2018. Łącznie włączono do badania 52 pacjentów, u których był dostępny reprezentatywny materiał biopsyjny. Badania immunohistochemiczne celem wykrycia analizowanych biomarkerów (białka PARP-1 i IDO-1) zostały wykonane z archiwalnych bloczków parafinowych zawierających materiał tkankowy pochodzący z diagnostycznych przeskrónych gruboigłowych biopsji nerek. Analiza ekspresji badanych biomarkerów w tkance nerkowej została przeanalizowana w odniesieniu do retrospektywnych klinicznych i laboratoryjnych wykładników postępu przewlekłej choroby nerek. Analizie podlegały czynniki demograficzne takie jak: wiek, płeć, parametry antropomorficzne, dane kliniczne, w tym odpowiedź na wstępną terapię oraz całościowe stosowane leczenie. Parametry kliniczne i wyniki badań laboratoryjnych pacjentów zostały przeanalizowane w momencie biopsji oraz po roku od jej wykonania. Dodatkowo analizie poddano wskaźniki wieloletniego przeżycia nerek (do stycznia 2023).

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu.

3.2 Różnicowanie pomiędzy pierwotnym a wtórnym FSGS

Rozpoznanie pierwotnego lub wtórnego FSGS stawiano na podstawie wyniku badania histopatologicznego bioptatu nerki, przebiegu choroby, informacji uzyskanych z wywiadu oraz po ewentualnym ustaleniu wtórnej przyczyny glomerulopatii. W szczególności przy rozpoznaniu pierwotnego typu FSGS uwzględniano:

- wykluczenie zmian polekowych z powodu wcześniejszego przyjmowania inhibitorów mTOR, inhibitorów kalcyneuryny, antracyklin, stosowania terapii przeciwwirusowej (ledipaswir, sofosbuwir), litu, interferonu α , steroidów anabolicznych oraz substancji psychoaktywnych,
- wykluczenie wywiadu sugerującego etiologię rodzinną – genetyczną,

- wykluczenie zmian wtórnych do zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu B, wirusem zapalenia wątroby typu C, HIV, CMV oraz parwowirusem B19,

3.3 Podstawowe dane kliniczne

Wywiad, przebieg choroby oraz dane dotyczące leczenia uzyskano w oparciu o dokumentację medyczną zgromadzoną w Klinice Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej. Do badania wykorzystano dane archiwalne oraz dane gromadzone w trakcie prowadzenia obserwacji. Obserwacje były prowadzone od czasu biopsji, w której rozpoznano FSGS (pierwotny i wtórny) do czasu utraty funkcji nerek lub do stycznia 2023 w przypadku pacjentów, którzy nie wymagali leczenia nerkozastępczego. Czas obserwacji pacjentów z rozpoznaniem FSGS wynosił 8 do 132 miesięcy ($76,9 \pm 30,3$). Analizie poddano parametry laboratoryjne w okresie okołobiopsyjnym, rok po nim, oraz do czasu utraty funkcji nerek lub końca obserwacji. W szczególności wykonano analizę następujących badań laboratoryjnych: pełną morfologię krwi, stężenie albumin, białka całkowitego, kreatyniny wraz z eGFR, stężenie cholesterolu całkowitego, bilirubiny całkowitej, mocznika, kwasu moczowego, CRP, a także OB, parametry z badania ogólnego moczu, białkomocz dobowy wyliczony (UPCR). W pracy wykorzystano wyłącznie badania wykonywane ze wskazań klinicznych.

3.4 Standardowe oznaczenia laboratoryjne

Standardowe oznaczenia laboratoryjne wykorzystywane w czasie obserwacji wykonane zostały przy użyciu komercyjnych testów diagnostycznych w Laboratorium Diagnostycznym Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu.

Funkcję filtracyjną nerek oznaczano na podstawie eGFR, który oszacowano na podstawie uproszczonego wzoru MDRD:

$$eGFR = 186,3 \times \text{stężenie kreatyniny w surowicy}^{-1,154} \times \text{wiek}^{-0,203} \times \{0,742 \text{ dla kobiet}\} [8]$$

Wielkość dobowego białkomoczu szacowano na podstawie stosunku stężenia białka do stężenia kreatyniny w pojedynczej próbce moczu porannego (UPCR, interpretacja: białkomocz nerczycowy $\geq 3,5$, białkomocz subnerczycowy $0,3 - 3,5$, brak białkomoczu $< 0,3$).

Ponadto w badaniu zostały ocenione markery systemowej odpowiedzi zapalnej, wyznaczone na podstawie automatycznego rozmazu krwi obwodowej (morfologia 5-DIFF). Szczegółowej ocenie zostały poddane cztery markery zapalne:

- NLR – stosunek liczebności neutrofilów do limfocytów (*neutrophil-to-lymphocyte-ratio*)
- dNLR – pochodny współczynnik NLR (*derived-NLR*), stosunek liczebności neutrofilów do różnicy liczebności leukocytów i limfocytów
- PLR – stosunek liczebności płytek krwi do limfocytów (*platalet-to-lymphocyte-ratio*)
- MLR – stosunek liczebności monocytów do limfocytów (*monocyte-to-lymphocyte-ratio*)

3.5 Wykorzystane definicje według KDIGO [8]

- Remisja całkowita – zmniejszenie białkomoczu do <300 mg/d lub <300 mg/g kreatyniny oraz stabilne stężenie kreatyniny w surowicy i stężenie albuminy w surowicy krwi >3,5 g/dl
- Remisja częściowa – zmniejszenie białkomoczu do 300–3500 mg/d lub 300–3500 mg/g kreatyniny lub zmniejszenie białkomoczu o $\geq 50\%$ w stosunku do wartości wyjściowej
- Pogorszenie funkcji filtracyjnej nerek – obniżenie eGFR o 25% w stosunku do wartości wyjściowej i/lub rozpoczęcie dializoterapii
- Aktywny osad moczu – obecność >5 erytrocytów i/lub ≥ 1 erytrocytu dysmorficznego, i/lub >5 leukocytów, i/lub ≥ 1 patologicznego wałeczka (ziarnistego lub erytrocytarnego) w polu widzenia
- Istotna zmiana nasilenia białkomoczu – zwiększenie lub zmniejszenie wartości białkomoczu w porównaniu do wartości początkowej o co najmniej 50%

3.6 Ocena mikroskopowa bioptatów nerki

3.6.1 Ocena histopatologiczna

Ocenę histopatologiczną wszystkich dostępnych bioptatów nerek przeprowadzono w Katedrze Patologii Klinicznej i Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Do badań wykorzystano materiał tkankowy utrwalony w 10% roztworze buforowanej formaliny i zatopiony w parafinie. Z blozków parafinowych zawierających utrwalone tkanki przy użyciu mikrotomu sporządzano skrawki grubości 3 mikrometrów, które następnie wybarwiano metodami rutynowo stosowanymi w nefropatologii (m.in.: HE, PAS, trichrom Mallory’ego).

Podczas analizy badanych bioptatów ustalono kryteria oceny, które przedstawiono poniżej:

Ocena kłębuszków nerkowych:

- liczba kłębuszków z różnym nasileniem segmentalnej sklerotyzacji z uwzględnieniem podziału na następujące klasy: <10% powierzchni pętli włosniczki objętych sklerotyzacją, 10–25%, 25–50%, 50–90% powierzchni pętli włosniczki objętych sklerotyzacją oraz stwardniałe w całości (100%)
- liczba kłębuszków z proliferacją komórek mezangium (jeśli stwierdzono)
- liczba kłębuszków bez istotnych zmian w mikroskopie świetlnym

Skala oceny arteriosklerozy:

- (0) arterioskleroza nieobecna
- (1) arterioskleroza niedużego stopnia
- (2) arterioskleroza umiarkowanego stopnia
- (3) arterioskleroza nasiloną (zaawansowaną)

Ocena zmian w obrębie śródmiąższu:

- % dostępnej ocenie powierzchni korowej z cechami włóknienia
- % dostępnej ocenie powierzchni korowej z zanikiem cewek
- nasilenie śródmiąższowego przewlekłego nacieku zapalnego (TIN) według poniższej skali:
 - (0) brak zmian zapalnych
 - (1) ogniskowy przewlekły naciek zapalny o niedużym nasileniu
 - (2) umiarkowanie nasiloną przewlekłą zmianą zapalną
 - (3) nasiloną przewlekłą śródmiąższową zmianą zapalną

3.7 Badanie immunohistochemiczne oraz ocena immunopatologiczna ekspresji PARP-1 i IDO-1 w bioptatach nerki

W trakcie badania wykonano ocenę immunohistochemiczną tkankowych biomarkerów charakteryzujących aktywację procesów potencjalnie zaangażowanych w rozwój FSGS, do których należą:

- polimeraza poli(ADP-rybozy) 1 (PARP-1),
- 2,3-dioksygenaza indolaminy (IDO-1).

Barwienia immunohistochemiczne (IHC) przeprowadzono w Katedrze Patologii Klinicznej i Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Do badań immunohistochemicznych wykorzystano materiał tkankowy utrwalany w 10% roztworze buforowanej formaliny i zatapiany w bloczkach parafinowych. Badania immunohistochemiczne przeprowadzono na skrawkach tkankowych grubości 4 μm z użyciem przeciwciał przeciwko PARP-1 (klon: sc-74470 (B10), rozcieńczenie: 1:50, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA), i IDO-1 (1F8.2, 1:400, Millipore, Burlington, MA). Wykorzystano roztwór EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution (Agilent DAKO, Santa Clara, CA) w 30-minutowej inkubacji w 97°C w aparacie PT Link (DAKO). Zautomatyzowane barwienie immunohistochemiczne przeprowadzono w Autostainer Link 48 (DAKO), a jako system wykrywania zastosowano Liquid Permanent Red (Agilent DAKO).

3.7.1 Ocena immunopatologiczna ekspresji badanych markerów

Ocenę ekspresji PARP-1 i IDO-1 przeprowadzono w obrębie kłębuszków nerkowych, nabłonka cewkowego oraz śródmiąższowego nacieku zapalnego, uwzględniając ocenę stopnia nasilenia immunoreaktywności według poniższego algorytmu:

Nabłonek cewkowy:

- (0) brak ekspresji
- (1) 1–24% komórek nabłonka cewkowego z niedużego do umiarkowanego stopnia immunoreaktywnością
- (2) 25–75% komórek nabłonka cewkowego z niedużego do umiarkowanego stopnia immunoreaktywnością
- (3) >75% komórek nabłonka cewkowego z niedużego do umiarkowanego stopnia immunoreaktywnością

Kłębuszki:

- (0) brak ekspresji
- (1) <25% komórek z niedużego do umiarkowanego stopnia immunoreaktywnością
- (2) 25–75% komórek z niedużego do umiarkowanego stopnia immunoreaktywnością

(3) >75% komórek z niedużego do umiarkowanego stopnia immunoreaktywnością

Śródmierzowy naciek zapalny:

(0) brak ekspresji

(1) <25% komórek nacieku zapalnego z niedużego do umiarkowanego stopnia immunoreaktywnością

(2) >25% komórek nacieku zapalnego z niedużego do umiarkowanego stopnia immunoreaktywnością

3.8 Analiza statystyczna

W podstawowych tabelach zbiorczych dane liczbowe opisywano, podając wartość średnią±odchylenie standardowe (SD) oraz medianę i zakres międzykwartyłowy (IQR, zakres podany w nawiasach kwadratowych). Ocenę podobieństwa rozkładu zmiennych liczbowych do rozkładu normalnego przeprowadzono przy zastosowaniu testu Shapiro-Wilka. W przypadku większości zmiennych nie stwierdzono podobieństwa rozkładu do rozkładu normalnego. Różnice pomiędzy grupami analizowano zatem testem Manna-Whitneya (2 grupy) lub testem rangowym Kruskala-Wallis (3 lub więcej grup). Różnice pomiędzy zmiennymi zależnymi oceniano testem Wilcoxon. Współzależności pomiędzy zmiennymi oceniano korelacją rang Spearmana. Dane jakościowe przedstawiano jako liczebność (%). Różnice w częstościach porównywano testem chi-kwadrat. Ocenę przeżycia przeprowadzano za pomocą analizy krzywych Kaplana-Meiera oraz modelu proporcjonalnego hazardu Coxa dla jednej oraz wielu zmiennych. Wyniki oceny osiągnięcia założonego punktu końcowego podawano jako stopa hazardu (HR) wraz z 95% przedziałem ufności. Istotność statystyczną dla wszystkich analiz przyjęto na poziomie prawdopodobieństwa $p < 0,05$.

Obliczenia statystyczne wykonano z wykorzystaniem pakietu MedCalc (MedCalc Software, Ltd.).

4 Wyniki

4.1 Charakterystyka demograficzna i kliniczna grupy badanej

Do badania zakwalifikowano wszystkich pacjentów z rozpoznaniem FSGS, dla których były dostępne bloczki parafinowe zawierające reprezentatywny materiał tkankowy. Łącznie przebadano 52 pacjentów, w tym 35 (67,3%) z rozpoznaniem pierwotnego oraz 17 (32,7%) wtórnego FSGS. W badaniu wzięło udział 37 mężczyzn (71,2%) i 15 kobiet (28,8%), średni wiek badanych wynosił $44,8 \pm 15,9$, mediana 44 [29–57] lat. Pierwotny FSGS został rozpoznany u 24 mężczyzn i 11 kobiet, średni wiek $43,4 \pm 16,4$, mediana 42 [28–53] lat. Wtórny FSGS rozpoznano u 13 mężczyzn i 4 kobiet, średni wiek $47,5 \pm 14,9$, mediana 52 [35–58] lat. Grupy pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS nie różniły się pod względem płci ($p=0,559$) i wieku ($p=0,301$).

Prawidłową funkcję filtracyjną nerek obserwowano u 31 pacjentów (60%) momencie wykonania biopsji. Dla całej grupy średnie stężenie kreatyniny w surowicy w okresie okołobiopsyjnym wynosiło $1,798 \pm 1,028$, mediana 1,55 [1,01–2,39] mg/dl. Średnie stężenie białka całkowitego i albuminy w surowicy były obniżone, odpowiednio $5,8 \pm 1,2$, mediana 5,8 [5,2–6,5] g/dl dla białka całkowitego oraz $3,3 \pm 0,9$, mediana 3,3 [2,9–3,9] g/dl dla albuminy. Średni białkomocz oszacowany na podstawie stosunku białka do kreatyniny w moczu (*urine protein/creatinine ratio*, UPCR) wynosił $2,83 \pm 2,61$, mediana 1,9 [0,9–3,9] g/dobę. U 33 (63,5%) pacjentów stwierdzono aktywny osad moczu.

W Tabeli 4-1 przedstawiono wyniki badań laboratoryjnych uzyskanych w grupie badanej w okresie okołobiopsyjnym. Na początku diagnostyki oznaczano również składowe dopełniacza i miano następujących przeciwciał: pANCA, cANCA, anty-ANA, anty-dsDNA, anty-GBM. U jednego pacjenta obserwowano nieznacznie podwyższone miano składowej dopełniacza C4, u 2 osób stwierdzono obecność przeciwciał ANA, u 3 pacjentów wynik był wątpliwy. U jednego pacjenta stwierdzono w surowicy przeciwciała anty- dsDNA. U żadnego pacjenta nie wykazano przeciwciał anty-GBM, pANCA oraz cANCA.

Łącznie, u pacjentów z grupy badanej, stwierdzono następujące choroby towarzyszące: nadciśnienie tętnicze (37 pacjentów), choroba niedokrwienna serca (1 pacjent), zaburzenia rytmu serca (1 pacjent), dyslipidemie (41 pacjentów), dna moczanowa (8 pacjentów), cukrzyca t. 2 (1 pacjent), otyłość (7 pacjentów), choroby tarczycy (3 pacjentów: rak tarczycy, niedoczynność tarczycy), choroby przewodu pokarmowego (11 pacjentów, choroba refluksowa

przełyku, zapalenie żołądka, uchyłkowatość jelita grubego), choroby układu oddechowego (2 pacjentów: astma, POChP), WZW typu B (2 pacjentów), wady dróg moczowych (zdwojenie moczowodu, 2 pacjentów), przerost gruczołu krokowego (3 pacjentów), zapalenie przydatków (1 pacjentka).

Tabela 4-1. Parametry laboratoryjne w okresie okołobiopsyjnym dla całej grupy włączonej do badania.

parametr	Średnia \pm SD	Mediana [IQR]	Zakres referencyjny
Leukocyty [tys kom./ μ l]	7,934 \pm 2,806	7,54 [5,86–9,78]	4,00-10,00
Neutrofile [tys kom./ μ l]	4,936 \pm 2,276	4,38 [3,25–6,63]	2,50-6,00
Limfocyty [tys kom./ μ l]	3,272 \pm 5,759	2,07 [1,50–2,71]	1,50-3,50
Monocyty [tys kom./ μ l]	0,603 \pm 0,244	0,57 [0,44–0,72]	0,08-1,20
Eozynofile [tys kom./ μ l]	0,458 \pm 1,079	0,14 [0,10–0,26]	0,00-0,60
Erytrocyty [mln kom./ μ l]	4,494 \pm 0,679	4,48 [3,93–4,87]	K: 4,00-5,00 M: 4,50-5,50
Hemoglobina [g/dl]	13,32 \pm 2,02	13,1 [12,0–14,6]	K: 12,0-16,0 M: 14,0-18,0
Płytki krwi [tys/ μ l]	263,8 \pm 83,6	245 [193–326]	140-440
Albumina [g/dl]	3,27 \pm 0,86	3,3 [2,9–3,9]	3,50-5,20
Białko całkowite [g/dl]	5,80 \pm 1,15	5,8 [5,2–6,5]	6,60-8,30
Bilirubina całkowita [mg/dl]	0,58 \pm 0,37	0,5 [0,3–0,75]	0,20-1,20
Cholesterol całkowity [mg/dl]	291,1 \pm 107,1	270 [210–355]	130-200
Białko C reaktywne [mg/l]	2,99 \pm 8,53	1,1 [0,6–2,0]	0,0-5,0
Mocznik [mg/dl]	58,6 \pm 33,9	54 [36–67,5]	17-43
Kwas moczowy [mg/dl]	7,22 \pm 1,35	7,1 [6,4–8,3]	K: 2,6-6,0 M: 3,5-7,2
Kreatynina [mg/dl]	1,798 \pm 1,03	1,55 [1,01–2,39]	K: 0,70-1,10 M: 0,80-1,30
eGFR [ml/min/1,73m ²]	53,4 \pm 26,3	49 [29,5–78]	>60
OB [mm/h]	36,4 \pm 38,3	21,5 [14–50]	K: 3-15 M: 1-10
UPCR	2,83 \pm 2,61	1,9 [0,9–3,9]	<0,3

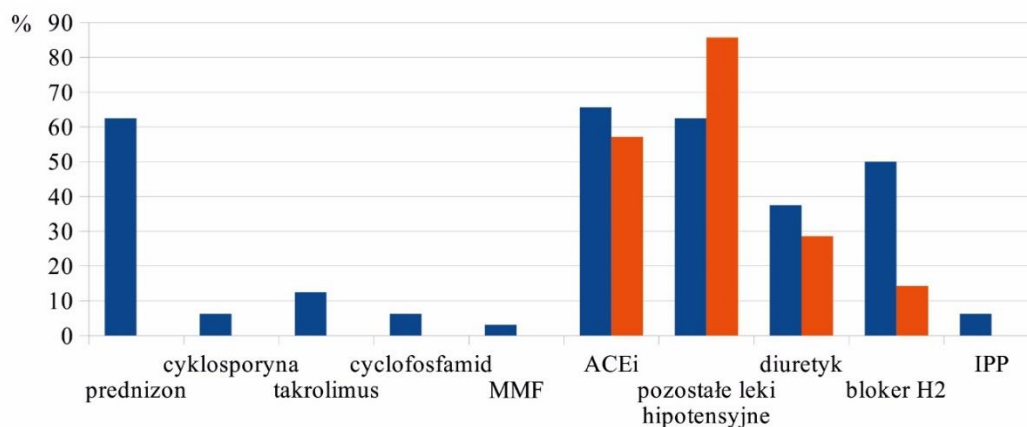
4.2 Leczenie

Leczenie pierwotnego i wtórnego FSGS było prowadzone przez lekarzy Kliniki Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej. Leki były wdrażane na podstawie wskazań klinicznych, zgodnie z obowiązującą wiedzą medyczną.

W trakcie leczenia poprzedzającego wykonanie biopsji, immunosupresja była stosowana u 17 pacjentów (32,7%), w tym prednizon (16 pacjentów), cyklosporyna (8 pacjentów), takrolimus (2 pacjentów), MMF (7 pacjentów), oraz azatiopryna (2 pacjentów). Jako element leczenia nefroprotekcijnego stosowano inhibitory konwertazy angiotensyny (25 pacjentów, 48,1%), a dodatkowo dla uzyskania kontroli nadciśnienia tętniczego wdrażano inne leki hipotensyjne (średnio 1, maksymalnie 4 preparaty stosowane jednocześnie). 8 pacjentów (15,4%) nie otrzymało żadnego leczenia.

Po uzyskaniu wyniku badania histopatologicznego leczenie immunosupresyjne otrzymało 20 chorych z rozpoznaniem pierwotnego FSGS (57,1%), u 12 (34,3%) chorych z tej grupy, ze względu na zaawansowanie zmian wstecznych stwierdzonych w bioptacie nerki, nie wdrożono leczenia. Nie było możliwe uzyskanie informacji dotyczącej leczenia po biopsji nerki u 3 chorych. W leczeniu immunosupresyjnym pierwotnego FSGS stosowano: prednizon (20 pacjentów, 62,5%), cyklosporynę (2 pacjentów, 6,3%), mykofenolan mofetylu (1 pacjent, 3,1%), cyklofosfamid (2 pacjentów, 6,3%) oraz takrolimus (4 pacjentów, 12,5%). Równocześnie u 21 (65,6%) pacjentów stosowano leczenie nefroprotekcyjne inhibitorami konwertazy angiotensyny (ACEI). Na Rycinie 4-1 przedstawiono leczenie stosowane w zależności od rozpoznanego typu FSGS w okresie roku od analizowanej biopsji nerki.

Rycina 4-1. Leczenie stosowane w zależności od rozpoznanego typu FSGS w okresie roku od analizowanej biopsji nerki. Na wykresie przedstawiono odsetek pacjentów z pierwotnym (niebieski) lub wtórnym (czerwony) FSGS, u których stosowano dany lek.



Chorzy z rozpoznaniem wtórnego FSGS otrzymali wyłącznie leczenie nefroprotecyjne (8 pacjentów, 57,1%) lub też żadne leczenie nie było stosowane. U 3 pacjentów z wtórnym FSGS nie były dostępne informacje dotyczące leczenia po biopsji.

4.3 Porównanie wyników badań laboratoryjnych w grupach pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS w okresie okołobiopsyjnym

Grupy z pierwotnym i wtórnym FSGS różniły się istotnie statystycznie pod względem stężeń następujących parametrów w surowicy krwi:

- albumin (3,1 [2,6–3,4] vs 3,9 [3,4–4,2] g/dl, $p < 0,001$),
- białka całkowitego (5,5 [4,6–6,0] vs 6,4 [6,08–7,13] g/dl, $p < 0,001$),
- cholesterolu całkowitego (289 [244–402] vs 215 [203–252] mg/dl, $p = 0,002$),

a także pod względem białkomoczu dobowego (UPCR, 3,06 [1,23–4,34] vs 1,4 [0,38–2,02], $p = 0,008$).

W grupie pacjentów z pierwotnym FSGS stwierdzono ponadto istotnie niższą liczbę eozynofiliów na mikrolitr (0,1 [0,09–0,19] vs 0,2 [0,16–0,53] tys kom./ μ l, $p = 0,003$).

W Tabeli 4-2 przedstawiono standardowe parametry laboratoryjne pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS w okresie okołobiopsyjnym. Aktywny osad moczu obserwowano u 21 (60,0%) pacjentów w pierwotnym oraz 11 (64,7%) pacjentów z wtórnym FSGS ($p = 0,746$).

Na podstawie danych z automatycznego rozmazu krwi obwodowej wyznaczono wskaźniki systemowej odpowiedzi zapalnej (NLR, dNLR, MLR, PLR) dla wszystkich badanych pacjentów. Nie stwierdzono różnic w zakresie powyższych parametrów pomiędzy grupami pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS (Tabela 4-3).

Tabela 4-2. Porównanie wyników badań laboratoryjnych (okres okołobiopsyjny) w grupach pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS

parametr	FSGS pierwotny	FSGS wtórny	p
	Mediana [IQR]	Mediana [IQR]	
Leukocyty [tys. kom./ μ l]	7,7 [6,3–9,9]	3,9 [5,1–9,5]	0,745
Neutrofile [tys. kom./ μ l]	2,3 [3,3–6,7]	4,3 [2,9–5,9]	0,728
Limfocyty [tys. kom./ μ l]	2,1 [1,5–2,7]	1,8 [1,4–2,4]	0,390
Monocyty [tys. kom./ μ l]	0,6 [0,4–0,8]	0,6 [0,4–0,6]	0,473
Eozynofile [tys. kom./ μ l]	0,1 [0,1–0,2]	0,2 [0,2–0,5]	0,003
Erytrocyty [mln kom./ μ l]	4,4 [3,9–4,8]	4,7 [4,2–5,0]	0,370
Płytki krwi [mln/ μ l]	248 [191–331]	236 [197–295]	0,696
Albumina [g/dl]	3,1 [2,6–3,4]	3,9 [3,4–4,2]	<0,001
Białko całkowite [g/dl]	5,5 [4,6–6,0]	6,4 [6,1–7,1]	<0,001
Bilirubina całkowita [mg/dl]	0,4 [0,3–0,7]	0,5 [0,4–1,1]	0,136
Cholesterol całkowity [mg/dl]	289 [244–402]	215 [203–252]	0,002
Białko C reaktywne [mg/l]	0,9 [0,5–1,9]	1,6 [0,9–3,8]	0,114
EGFR [ml/min/1,73m ²]	51 [33–82]	38 [27–52]	0,080
Kreatynina [mg/dl]	1,42 [0,94–1,87]	1,89 [1,40–2,55]	0,081
Kwas moczowy [mg/dl]	7,2 [6,5–8,1]	7,0 [6,6–8,6]	0,446
Mocznik [mg/dl]	54 [35–68]	55 [42–66]	0,740
OB [mm/h]	25 [16–60]	15 [14–26]	0,220
UPCR	3,1 [1,2–4,3]	1,4 [0,4–2,0]	0,008

Tabela 4-3. Porównanie parametrów systemowej odpowiedzi zapalnej w obu grupach pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS.

parametr	średnia±SD	mediana [IQR]	FSGS pierwotny	FSGS wtórny	p
			Mediana [IQR]	Mediana [IQR]	
NLR	2,49±1,58	2,1 [1,5–3,2]	2,0 [1,4–2,3]	2,4 [1,7–3,2]	0,546
MLR	0,296±0,137	0,30 [0,21–0,35]	0,27 [0,21–0,40]	0,29 [0,23–0,34]	0,704
PLR	132,1±51,7	130 [93–166]	128 [91–167]	132 [110–164]	0,862
dNLR	1,75±0,94	1,6 [1,1–2,0]	1,6 [1,1–2,1]	1,6 [1,3–2,0]	0,697

Analizując stan kliniczny pacjentów w okresie, w którym wykonana została biopsja nerki, odsetek pacjentów z upośledzeniem czynności nerek (sCr>1,3 mg/dl) nie różnił się istotnie pomiędzy grupą pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS (p=0,087). W grupie z pierwotnym FSGS upośledzoną funkcję nerek stwierdzono u 18 (51,4%) pacjentów, u których odnotowano stężenie kreatyniny w zakresie od 1,35 do 6,58 mg/dl (średnia 2,440±1,279, mediana 1,87 [1,69–3,05] mg/dl). W grupie z wtórnym FSGS, upośledzenie funkcji nerki obserwowano u 13 (76,4%) pacjentów z kreatyniną w zakresie od 1,48 do 2,84 (średnia 2,190±0,486, mediana 2,34 [1,74–2,62] mg/dl).

W grupie pacjentów z pierwotnym FSGS białkomocz nerczycowy w zakresie od 3,5 do 10,8 (UPCR, średnio 5,40±2,44, mediana 4,14 [3,8–7,1]) rozpoznawano w okresie wykonania biopsji u 17 (48,6%) pacjentów, białkomocz subnerczycowy (UPCR, średnio 2,12±2,10, mediana 1,5 [0,8–2,7]) u 16 (45,7%) pacjentów, a u 2 (5,7%) pacjentów nie obserwowano białkomoczu. U 17 (48,6%) pacjentów z pierwotnym FSGS rozpoznano zespół nerczycowy. W grupie z wtórnym FSGS białkomocz subnerczycowy (UPCR, średnio 1,81±1,33, mediana 1,6 [1,2–2,2]) występował u 14 (82,4%) chorych, a u 3 osób (20,0%) nie obserwowano białkomoczu.

Podsumowując pacjenci z pierwotnym FSGS istotnie częściej prezentowali cechy zespołu nerczycowego (z obniżeniem stężenia białka całkowitego, albumin i zwiększeniem stężenia cholesterolu całkowitego oraz bardziej nasilonym białkomoczem) w porównaniu z pacjentami z grupy z wtórnym FSGS (p<0,001). Pozostałe parametry laboratoryjne, w tym czynność nerek nie różniły się istotnie pomiędzy badanymi grupami (Tabela 5-1 i 5-2).

4.4 Parametry biopsyjne

U 37 chorych oceniany był materiał pobrany podczas pierwszej biopsji (20 pierwotnych FSGS i 17 wtórnych FSGS), natomiast u 15 pacjentów badanie wykonano na materiale uzyskanym podczas drugiej biopsji. U tych pacjentów w pierwszej biopsji rozpoznano FSGS i materiał z tej biopsji był dostępny do celów niniejszego badania, a powtórna biopsję wykonywano z powodu nieuzyskania trwałej remisji w trakcie dotychczasowej terapii. Długość biopciatki wyniosła od 0,5 do 2,3 cm, śr. $1,39 \pm 0,48$, mediana 1,4 [IQR 1,0-1,8] cm. Całkowita ilość kłębuszków w biopciacie wynosiła od 4 do 48 (średnio $16,5 \pm 9,5$, mediana 15 [10–21]). W dostępnych biopsjach średnio $18,2 \pm 20,1\%$ (mediana 20 [0–32%]) kłębuszków nie wykazywało istotnych zmian w mikroskopie świetlnym, a $20,5 \pm 19,8\%$ ($18,5$ [0–40%]) kłębuszków było stwardniałe w całości. Średnio w $17,1 \pm 26,9\%$ (mediana 0 [0–30%]) kłębuszków obserwowano przybytek komórek mezangium. W Tabelach 4-4, 4-5 i 4-6 przedstawiono parametry biopsyjne dla całej grupy włączonej do badania.

Tabela 4-4. Parametry biopsyjne dla całej grupy włączonej do badania – ocena kłębuszków.

Parametr*	Min – max	Średnia \pm SD	Mediana [IQR]
Całkowita liczba kłębuszków	4 – 48	$16,5 \pm 9,5$	15 [10 – 21]
Liczba niezmiennych kłębuszków	0 – 28 (0 – 64%)	$5,1 \pm 5,8$ ($18,2 \pm 20,1\%$)	4 [1 – 8] (20 [0 – 32%])
Liczba kłębuszków ze sklerotyzacją <10%	0-8 (0 – 40%)	$1,1 \pm 2,0$ ($3,6 \pm 9,8\%$)	0 [0 – 3] (0 [0 – 0%])
Liczba kłębuszków ze sklerotyzacją 10-25%	0 – 15 (0 – 50%)	$3,4 \pm 3,5$ ($1,7 \pm 15,9\%$)	3 [0 – 5] (0 [0 – 20%])
Liczba kłębuszków ze sklerotyzacją 25-50%	0 – 15 (0 – 50%)	$2,1 \pm 2,9$ ($6,4 \pm 13,5\%$)	1,5 [0 – 3] (0 [0 – 0%])
Liczba kłębuszków ze sklerotyzacją 50-90%	0 – 6 (0 – 25%)	$0,7 \pm 1,3$ ($2,8 \pm 7,6\%$)	0 [0 – 1] (0 [0 – 0%])
Liczba kłębuszków ze sklerotyzacją 100%	0 – 11 (0 – 50%)	$2,9 \pm 2,4$ ($20,5 \pm 19,8\%$)	2 [1 – 4] ($18,5$ [0 – 40%])
Kłębuszki z proliferacją komórek mezangium	0 – 27 (0 – 100%)	$4,8 \pm 6,2$ ($17,1 \pm 26,9\%$)	3 [0 – 7] (0 [0 – 30%])

* obserwowany stopień zmian w kłębuszkach podawano jako liczbę zmienionych kłębuszków oraz odsetek zmienionych kłębuszków (w nawiasach).

W obrębie śródmiąższu stwierdzono zanik cewek (jeśli był obecny) na od 1 do 45% powierzchni (średnio $11,1 \pm 12,3\%$, mediana 9 [0–20%]), natomiast włóknienie (jeśli było obecne) obserwowano na poziomie od 5 do 45% powierzchni (średnio $13,9 \pm 10,6\%$, mediana 9 [5–20%]). Wykładniki morfologiczne arteriosklerozy były obecne w różnym nasileniu w 35 (67,3%) bioptatów. TIN stwierdzono u 24 pacjentów (46%).

Tabela 4-5. Częstość występowania i nasilenia arteriosklerozy.

Arterioskleroza	0	1	2	3
Liczba pacjentów	17	9	19	7
% grupy badanej	32,7	17,3	36,5	13,5

Tabela 4-6. Częstość występowania poszczególnych stopni przewlekłych zmian zapalnych cewkowo- śródmiąższowych (TIN).

TIN	0	1	1 / 2	2	2 / 3
Liczba pacjentów	28	10	6	7	1
% grupy badanej	58,0	19,2	11,5	13,5	1,9

4.5 Analiza korelacji pomiędzy poszczególnymi parametrami badania histopatologicznego bioptatów nerek.

Przeanalizowano zależności pomiędzy różnymi parametrami ocenianymi w bioptatach nerek. Sklerotyzację kłębuszków opisywaną w badaniach histopatologicznym z rozbiciem na 5 podkategorii przedstawiono w uproszczonej postaci skumulowanej do dwóch podgrup o istotnie różnym znaczeniu klinicznym, tj. sklerotyzacja od 5 do 50% oraz od 50 do 100% powierzchni pętli włosniczki kłębuszka.

Wykazano, że zmiany zachodzące w kłębuszkach nerkowych są związane ze zmianami patologicznymi w kompartmentie śródmiąższowym. Wykazano istotne korelacje pomiędzy zaawansowaną sklerotyzacją kłębuszków (od 50 do 100%), a odsetkiem powierzchni śródmiąższu objętej włóknieniem ($r=0,60$, $p<0,001$) oraz odsetkiem powierzchni objętej zanikiem cewek ($r= 0,46$; $p<0,001$).

Stwierdzono również ujemne korelacje pomiędzy odsetkiem niezmiennych kłębuszków, a odsetkiem powierzchni objętej włóknieniem ($r=-0,50$, $p<0,001$) oraz odsetkiem powierzchni objętej zanikiem cewek ($r=-0,43$; $p=0,002$). Macierz korelacji przedstawiono na Rycinie 4-2.

Rycina 4-2. Macierz korelacji parametrów oceny histopatologicznej biopatów nerki.

Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją od 5 do 50%	Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją od 50 do 100%	Odsetek kłębuszków z proliferacją mezangium	% włóknienia	% zaniku cewek	
$r=-0,02$ $p=0,872$	$r=-0,64$ $p<0,001$	$r=-0,24$ $p=0,091$	$r=-0,50$ $p<0,001$	$r=-0,43$ $p=0,002$	Odsetek kłębuszków niezmiennych
	$r=-0,25$ $p=0,084$	$r=-0,05$ $p=0,714$	$r=-0,10$ $p=0,497$	$r=-0,43$ $p=0,002$	Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją od 5 do 50%
		$r=-0,05$ $p=0,732$	$r=0,64$ $p<0,001$	$r=0,46$ $p<0,001$	Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją od 50 do 100%
			$r=0,01$ $p=0,926$	$r=-0,07$ $p=0,637$	Odsetek kłębuszków z proliferacją mezangium
				$r=0,83$ $p<0,001$	% włóknienia

W grupie z obecnym przewlekłym śródmiąższowym naciekiem zapalnym (TIN) obserwowano istotnie częściej zaawansowaną sklerotyzację kłębuszków ($p=0,007$), a także większy odsetek powierzchni śródmiąższu objętej włóknieniem ($p<0,001$) oraz zanikiem cewek ($p<0,001$). Dokładne dane przedstawiono w Tabeli 4-6.

W grupie z obecnością zmian naczyniowych o charakterze arteriosklerozy (Tabela 4-7) obserwowano istotnie częściej nasiloną sklerotyzację kłębuszków ($p=0,002$), a także większy odsetek powierzchni objętej włóknieniem ($p<0,001$) oraz zanikiem cewek ($p<0,006$).

Tabela 4-6. Wybrane parametry oceny histopatologicznej biopsji nerki w grupach pacjentów w zależności od obecności TIN.

	TIN=0 (n=28)	TIN>0 (n=23)	P
	Mediana [IQR]	Mediana [IQR]	
Odsetek niezmiennych kłębuszków	35 [18–49]	20 [7–31]	0,062
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 5–50%	40 [32–49]	43 [31–46]	0,622
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 50–100%	15 [5–30]	29 [25–46]	0,007
Odsetek kłębuszków z proliferacją mezangium	25 [0–39]	26 [0–48]	0,718
% włóknienia	5 [0–15]	20 [15–20]	<0,001
% zaniku cewek	0 [0–10]	20 [10–20]	<0,001

Tabela 4-7. Wybrane parametry oceny histopatologicznej biopsji nerki w grupach pacjentów w zależności od obecności zmian naczyniowych o charakterze arteriosklerozy.

	Arteriioskleroza=0 (n=17)	Arteriioskleroza>0 (n=35)	P
	Mediana [IQR]	Mediana [IQR]	
Odsetek niezmiennych kłębuszków	35 [22–48]	20 [7–33]	0,068
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 5–50%	40 [31–47]	40 [32–50]	0,868
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 50–100%	13 [4–23]	29 [17–50]	0,002
Odsetek kłębuszków z proliferacją mezangium	25 [0–49]	25 [0–40]	0,527
% włóknienia	5 [0–10]	20 [15–20]	<0,001
% zaniku cewek	0 [0–6]	20 [0–20]	0,006

4.6 Porównanie parametrów oceny histopatologicznej biopłatów u pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS

W ocenie porównawczej biopłatów w obu grupach pacjentów stwierdzono istotną statystycznie różnicę w stopniu zaniku cewek. W przypadku biopłatów pobranych od pacjentów z wtórnym FSGS stwierdzono zwiększony stopień zaniku niż u pacjentów z rozpoznaniem pierwotnego FSGS (mediana 20 [0–30%] vs 0 [0–18%], $p=0,011$). Grupy nie różniły się pod względem włóknienia śródmiąższu.

Tabela 4-8. Porównanie parametrów oceny histopatologicznej biopłatów pobranych od pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS.

parametr	Pierwotny FSGS	Wtórny FSGS	p
	Mediana [IQR]	Mediana [IQR]	
Odsetek niezmiennych kłębuszków	30 [8–47]	20 [8–30]	0,362
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 5–50%	40 [31–47]	43 [32–56]	0,441
w tym:			
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją <10%	0 [0–16]	0 [0–0]	0,375
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 10–25%	21 [0–33]	20 [0–37]	0,890
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 25–50%	0 [0–19]	16 [0–33]	0,059
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 50–100%	25 [7–49]	22 [13–32]	0,884
w tym:			
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 50–90%	0 [0–12]	0 [0–2]	0,228
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 100%	13 [5–39]	17 [12–32]	0,618
Odsetek kłębuszków z proliferacją mezangium	27 [0–45]	16 [0–34]	0,301
% włóknienia	15 [5–20]	20 [13–28]	0,074
% zaniku cewek	0 [0–18]	20 [0–30]	0,011

W ocenie kłębuszków w preparatach biopsyjnych nie stwierdzono różnic zarówno w zakresie sklerotyzacji, jak i obecności proliferacji komórek mezangium.

Porównanie parametrów oceny histopatologicznej bioptatów w obu grupach przedstawiono w Tabeli 4-8.

Zmiany zapalne cewkowo-śródmiąższowe (TIN) były obserwowane w podobnym odsetku w bioptatach z pierwotnym (14 bioptatów, 40,0%) i wtórnym FSGS (10 bioptatów, 58,8%, $p=0,206$). Również rozkład nasilenia tych zmian nie różnił się istotnie między badanymi grupami ($p=0,196$, Tabela 4-9).

Tabela 4-9. Porównanie występowania i nasilenia TIN u pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS.

TIN	0	1	1 / 2	2	2 / 3	p
Pierwotny FSGS	21 (60,0%)	7 (20,0%)	2 (5,7%)	5 (14,3%)	0	0,196
Wtórny FSGS	7 (41,2%)	3 (17,6%)	4 (23,5%)	2 (11,8%)	1 (5,9%)	

Wykładniki morfologiczne arteriolosklerozy były obecne w podobnym odsetku w bioptatach z rozpoznaniem pierwotnego (21 bioptatów, 60,0%) i wtórnego FSGS (14 bioptatów, 82,4%, $p=0,110$). Podobnie stopień nasilenia tych zmian nie różnił się istotnie między badanymi grupami (Tabela 4-10, $p=0,372$).

Tabela 4-10. Porównanie występowania i nasilenia arteriolosklerozy u pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS.

Arterioloskleroza	0	1	2	3	p
Pierwotny FSGS	14 (40%)	5 (14,3%)	11 (31,45)	5 (14,3%)	0,372
Wtórny FSGS	3 (17,6%)	4 (23,5%)	8 (47,1%)	2 (11,8%)	

4.7 Zależność między zaawansowaniem zmian histopatologicznych w bioptacie nerek a parametrami laboratoryjnymi

Stwierdzono istotną różnicę między grupą pacjentów z upośledzeniem czynności nerek w okresie okołobiopsyjnym, a grupą z prawidłową czynnością nerek w odniesieniu do odsetka niezmiennych kłębuszków, który był istotnie wyższy w grupie z prawidłową czynnością nerek (mediana 36 [27–51%] vs 17 [0–28%], $p < 0,001$). Podobną zależność stwierdzono w przypadku odsetka kłębuszków ze znikomą segmentalną sklerotyzacją $< 10\%$ (mediana 0 [0–28%] vs 0 [0–0%], $p = 0,003$). Równocześnie obserwowano istotnie mniejszy odsetek kłębuszków z całkowitą sklerotyzacją w bioptatach od pacjentów z prawidłową czynnością nerek (mediana 10 [0–18] vs 25 [13–46], $p < 0,001$).

Nie stwierdzono związku pomiędzy czynnością nerek w okresie okołobiopsyjnym, a nasileniem proliferacji komórek mezangium w kłębuszkach. Szczegółowe parametry przedstawiono w Tabeli 4-11.

Obecność arteriolosklerozy była istotnie częstsza w grupie pacjentów z upośledzoną funkcją filtracyjną nerek w okresie okołobiopsyjnym, niż u pacjentów z dobrą funkcją nerek (26 pacjentów, 83,9% vs 9 pacjentów, 42,9%, $p = 0,002$). W Tabeli 4-12 przedstawiono rozkład częstości stopnia arteriolosklerozy obserwowanej w bioptacie w zależności od czynności nerek, również potwierdzający zwiększone nasilenie zmian w grupie pacjentów z upośledzoną funkcją ($p = 0,019$).

Stwierdzono istotną różnicę w nasileniu włóknienia zrębu oraz zaniku kanalików nerkowych a czynnością nerek w okresie około biopsyjnym – pacjenci z upośledzoną czynnością nerek mieli istotnie wyższy odsetek powierzchni objętej włóknieniem w obrębie śródmiąższu (mediana 20 [15–20] vs 5 [0–10], $p < 0,001$) i zanikiem cewek (mediana 18 [0–20] vs 0 [0–8,5], $p = 0,001$). Wyniki przedstawiono w Tabeli 4-13.

Tabela 4-11. Zależność między zaawansowaniem zmian histopatologicznych w biopsacie nerek a czynnością filtracyjną nerek (kłębuszki)

	sCr<1,3 mg/dl (n=21)	sCr>1,3 mg/dl (n=31)	p
	Mediana [IQR]	Mediana [IQR]	
Odsetek niezmiennych kłębuszków	36 [27–51]	17 [0–28]	<0,001
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 5–50%	40 [33–44]	43 [28–50]	0,737
w tym:			
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją <10%	0 [0–28]	0 [0–0]	0,003
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 10–25%	15 [0–32]	24 [3–35]	0,170
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 25–50%	10 [0–17]	14 [0–30]	0,195
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 50–100%	16 [5–25]	30 [13–50]	0,002
w tym:			
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 50–90%	0 [0–5]	0 [0–12]	0,434
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 100%	10 [0–18]	25 [13–46]	<0,001
Odsetek kłębuszków z proliferacją mezangium	22 [0–40]	27 [0–46]	0,611

Tabela 4-12. Porównanie występowania i nasilenia arteriolosklerozy u pacjentów z prawidłową i upośledzoną funkcją nerek.

Arterioloskleroza	0	1	2	3	p
sCr<1,3 mg/dl	12 (57,1%)	3 (14,3%)	4 (19,0%)	2 (9,5%)	0,019
sCr≥1,3 mg/dl	5 (16,1%)	6 (19,4%)	15 (48,4%)	5 (16,1%)	

Tabela 4-13. Zależność między zaawansowaniem zmian histopatologicznych w biopsjacie (śródmieższ) a czynnością filtracyjną nerek.

	sCr<1,3 mg/dl (n=21)	sCr≥1,3 mg/dl (n=31)	p
	Mediana [IQR]	Mediana [IQR]	
% włóknienia	5 [0–10]	20 [15–20]	<0,001
% zaniku cewek	0 [0–8,5]	18 [0–20]	0,001

Również obecność TIN była istotnie częstsza u pacjentów z gorszą czynnością nerek w czasie biopsji (20 pacjentów, 64,5% vs 4 pacjentów, 19,0%, p=0,001). Nasilenie TIN w grupie pacjentów z prawidłową funkcją filtracyjną nerek było opisywane jako maksymalnie 1 stopnia, podczas gdy w grupie z upośledzoną funkcją od stopnia 1 do 2/3 (p=0,006). Dokładny rozkład TIN w obu grupach przedstawiono w Tabeli 4-14.

Nie stwierdzono istotnej różnicy w parametrach oceny histopatologicznej kłębuszków między grupami pacjentów bez białkomoczu, z białkomoczem o mniejszym nasileniu oraz z białkomoczem nerczycowym (zespołem nerczycowym). Wyniki porównania zebrano w Tabeli 4-15.

Nie zaobserwowano również związku obecności i nasilenia białkomoczu w okresie biopsyjnym ze zmianami w obrębie śródmieższu (Tabela 4-16).

Podobnie występowanie i stopień zaawansowania arteriosklerozy (p=0,537) oraz TIN (p=0,984) nie były związane z nasileniem białkomoczu w okresie okołobiopsyjnym. Dane zebrano w Tabelach 4-17 i 4-18.

Tabela 4-14. Nasilenie TIN w grupie pacjentów z upośledzoną i prawidłową funkcją filtracyjną nerek w czasie biopsji

TIN	0	1	1 / 2	2	2 / 3	p
sCr<1,3 mg/dl	17 (81,0%)	4 (19,0%)	0	0	0	0,006
sCr≥1,3 mg/dl	11 (35,5%)	6 (19,4%)	6 (19,4%)	7 (22,6%)	1 (3,2%)	

Tabela 4-15. Zależność między zaawansowaniem zmian histopatologicznych w kłębuszkach a obecnością i nasileniem białkomoczu.

parametr	UPCR <0,3 n=5	UPCR 0,3-3,5 n=32	UPCR >3,5 n=14 (zespół nerczycowy)	p
	Mediana [IQR]	Mediana [IQR]	Mediana [IQR]	
Odsetek niezmiennych kłębuszków	20 [0-51]	20 [8-36]	31 [24-47]	0,358
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 5-50%	44 [39-49]	38 [32-48]	43 [32-47]	0,782
w tym:				
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją <10%	22 [0-30]	0 [0-0]	0 [0-10]	0,204
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 10-25%	22 [15-24]	17 [0-36]	21 [0-32]	0,892
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 25-50%	0 [0-7]	13 [0-28]	7 [0-19]	0,337
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 50-100%	13 [0-25]	26 [14-45]	19 [6-29]	0,240
w tym:				
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 50-90%	0	0 [0-8]	0 [0-13]	0,301
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 100%	13 [0-25]	17 [9-40]	13 [6-25]	0,537
Odsetek kłębuszków z proliferacją mezangium	22 [0-59]	29 [0-39]	25 [0-47]	0,985

Tabela 4-16. Zależność między zaawansowaniem zmian histopatologicznych w śródmiąszu nerek a białkomoczem.

parametr	UPCR <0,3 n=5	UPCR 0,3-3,5 n=32	UPCR >3,5 n=14 (zespół nerczycowy)	p
	Mediana [IQR]	Mediana [IQR]	Mediana [IQR]	
% włóknienia	15 [0-20]	15 [5-20]	5 [0-18]	0,589
% zaniku cewek	10 [0-21]	13 [0-20]	5 [0-18]	0,805

Tabela 4-17. Nasilenie arteriolosklerozy w zależności od stopnia białkomoczu w okresie okołobiopsyjnym

Arterioloskleroza	0	1	2	3	p
UPCR <0,3	2	1	1	1	0,537
UPCR 0,3-3,5	8	6	12	6	
UPCR >3,5 (zespół nerczycowy)	7	2	5	0	

Tabela 4-18. Nasilenie TIN w grupach pacjentów z różnym nasileniem białkomoczu w okresie okołobiopsyjnym

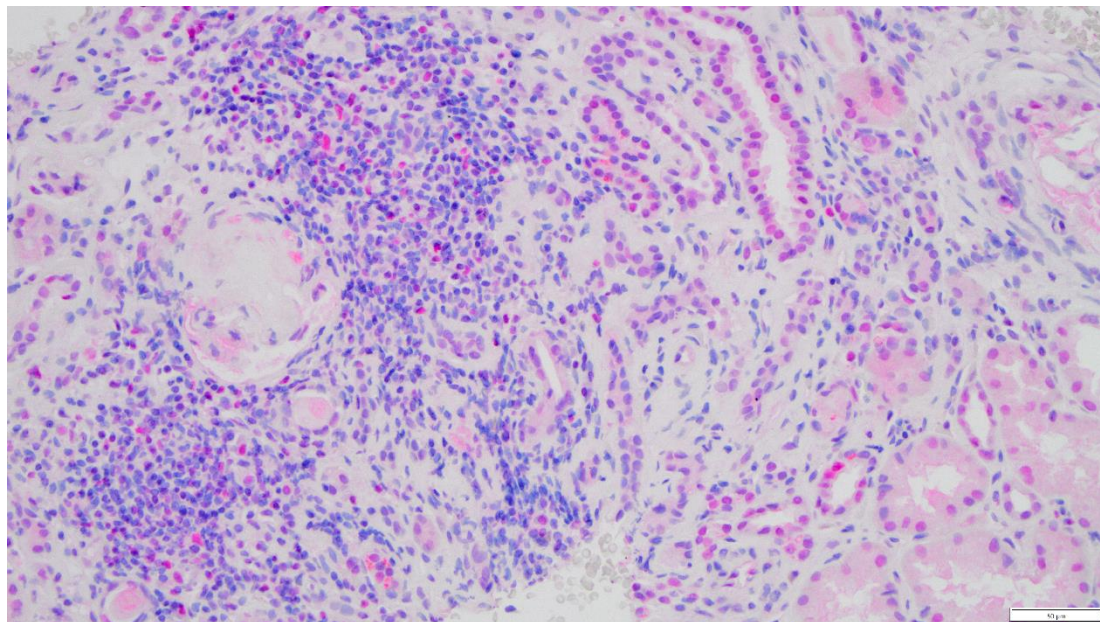
TIN	0	1	1 / 2	2	2 / 3	p
UPCR <0,3	3	1	0	1	0	0,984
UPCR 0,3-3,5	18	5	4	4	1	
UPCR >3,5 (zespół nerczycowy)	7	3	2	2	0	

4.8 Ekspresja PARP-1 w biopsjach nerek w pierwotnym i wtórnym FSGS

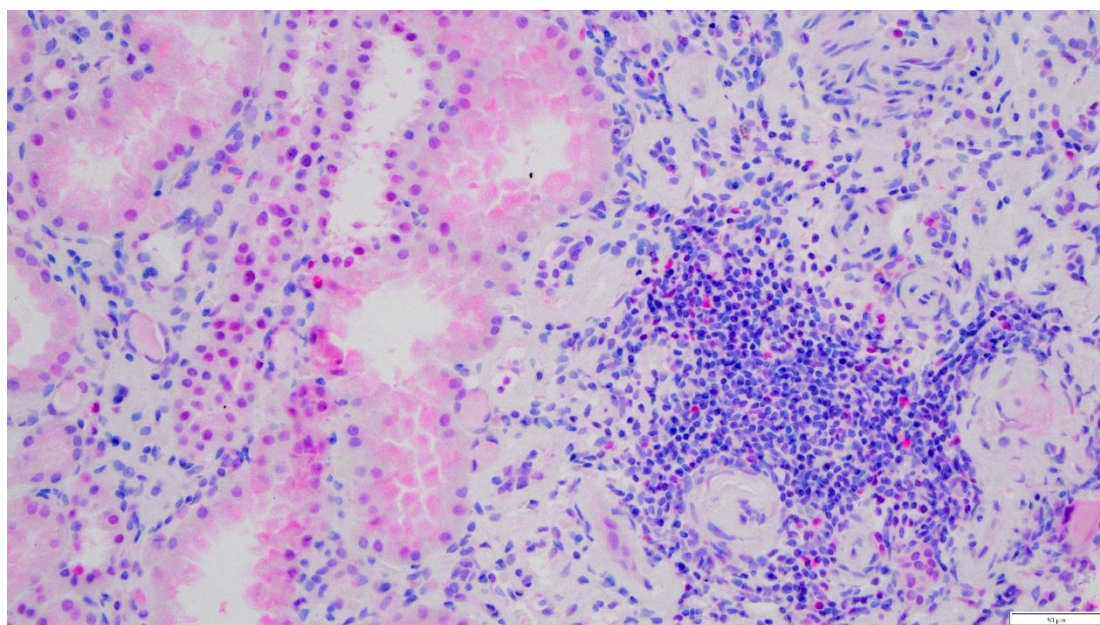
Ocenę ekspresji PARP-1 w badanych biopsjach przeprowadzono u 52 chorych. Na Rycinach 4-3-4-6 przedstawiono reprezentatywne mikrofotografie obrazujące immunoreaktywność PARP-1 w analizowanych biopsjach. Diagnostycznie reprezentatywną immunoreaktywność PARP-1 uzyskano dla 48 chorych (93%). Uzyskane wyniki barwienia immunohistochemicznego w kierunku PARP-1 zebrano w Tabeli 4-19.

Stwierdzono istotnie statystyczną zależność pomiędzy obserwowaną ekspresją PARP-1 w kłębuszkach oraz nabłonku cewek ($p < 0,001$). Odnotowano również korelację pomiędzy nasileniem ekspresji PARP-1 w śródmiąższowym nacieku zapalnym oraz w pozostałych kompartmentach ($p = 0,050$).

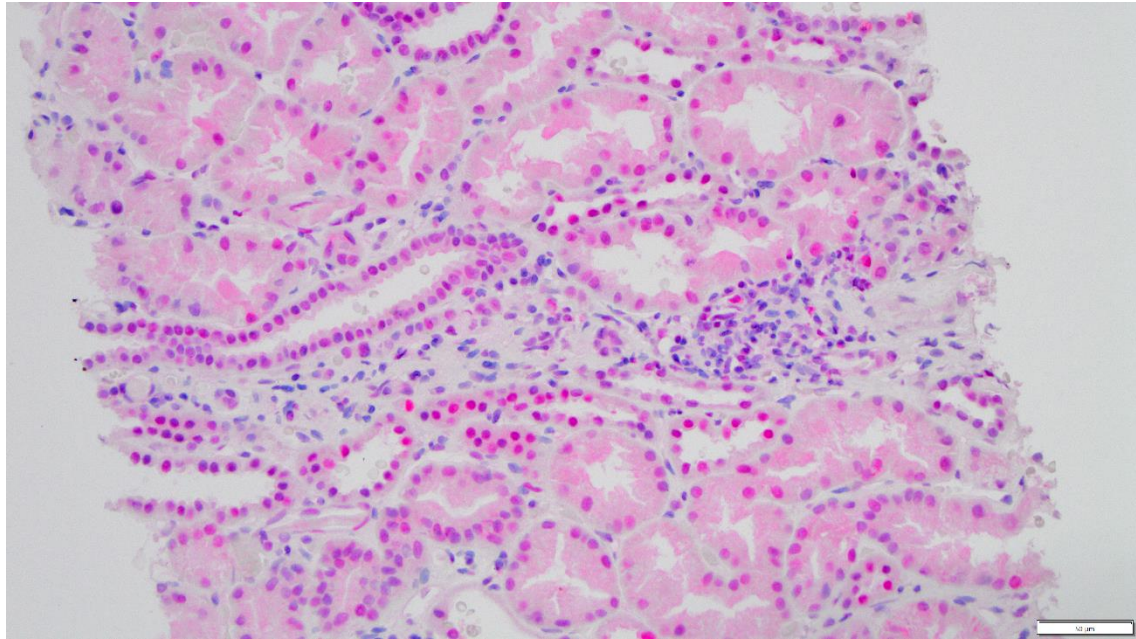
Rycina 4-3. Wysoka immnoreaktywność PARP-1 w komórkach śródmiąższowego nacieku zapalnego. Ogniskowa ekspresja PARP-1 w komórkach nabłonka cewkowego. Powiększenie 200x.



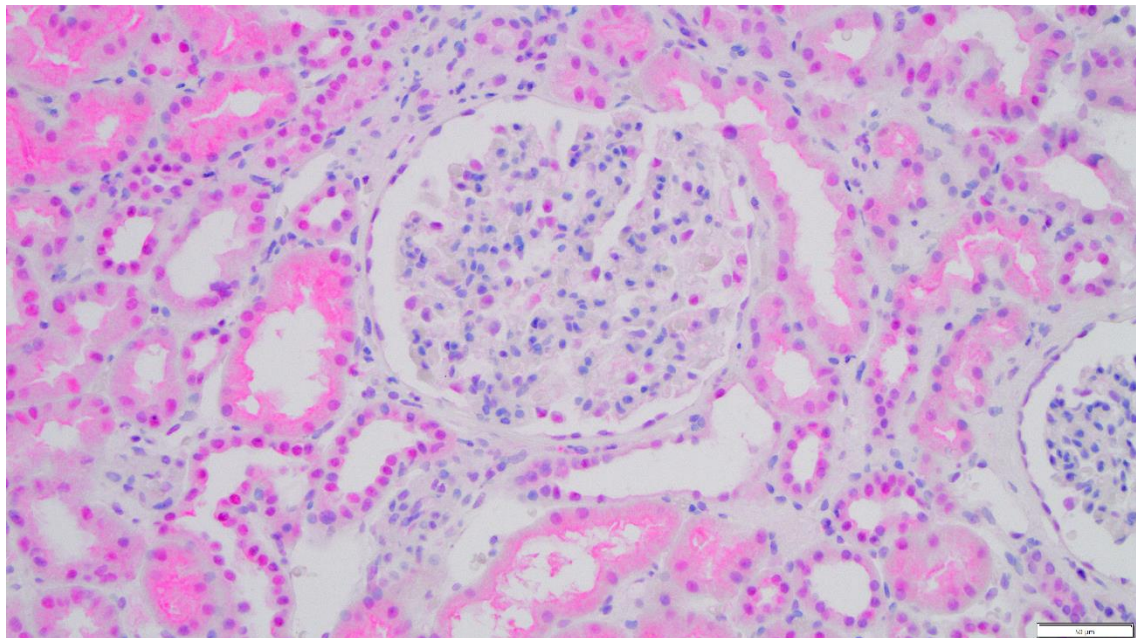
Rycina 4-4. Wysoka immnoreaktywność PARP-1 w komórkach nabłonka cewkowego. Ogniskowa ekspresja PARP-1 w komórkach śródmiąższowego nacieku zapalnego. Powiększenie 200x.



Rycina 4-5. Wysoka ekspresja PARP-1 w komórkach nabłonka cewkowego. Powiększenie 200x.



Rycina 4-6. Ekspresja PARP-1 w obrębie kłębuszka. Ogniskowa immunoreaktywność PARP-1 w obrębie nabłonka cewkowego. Powiększenie 200x.



Nie stwierdzono istotnych różnic pod względem intensywności ekspresji PARP-1 w poszczególnych kompartmentach biopsjatu nerek w grupach pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS. Parametry oceny immunohistochemicznej stwierdzone w biopsjatach nerek w grupach pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS przedstawia Tabela 4-20.

Tabela 4-19. Obserwowany poziom ekspresji PARP-1 w biopsjatach nerek u chorych z FSGS.

Kompartament	Stopień nasilenia ekspresji PARP-1			
	0	1	2	3
Kłębuszki	12 (26,7%)	20 (44,4%)	12 (26,7%)	1 (2,2%)
Nabłonek cewkowy	0 (0%)	18 (38,3%)	18 (38,3%)	11 (23,4%)
Śródmiąższowy naciek zapalny	14 (34,1%)	18 (43,9%)	8 (22%)	0 (0%)

Tabela 4-20. Ekspresja PARP-1 w biopsjatach nerek w grupach pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS.

Kompartament	FSGS	Stopień nasilenia ekspresji PARP-1				p
		0	1	2	3	
Kłębuszki	Pierwotny (n=32)	8	13	10	1	0,624
	Wtórny (n=13)	4	7	2	0	
Nabłonek cewkowy	Pierwotny (n=33)	0	11	13	9	0,483
	Wtórny (n=14)	0	7	5	2	
Śródmiąższowy naciek zapalny	Pierwotny (n=28)	11	12	5	0	0,502
	Wtórny (n=13)	3	6	4	0	

4.9 Zaawansowanie zmian histopatologicznych FSGS w zależności od ekspresji PARP-1 w biopsjach nerek

Przeprowadzono analizę zależności pomiędzy stwierdzonymi parametrami oceny histopatologicznej, a obserwowaną ekspresją PARP-1. W szczególności oceniono związek pomiędzy ekspresją PARP-1 w kłębuszkach nerkowych, a stopniem sklerotyzacji, odsetkiem

kłębuszków z proliferacją mezangium, a także arteriolosklerozą. Ze względu na stwierdzenie reakcji barwnej w kłębuszkach o wysokim nasileniu wyłącznie w jednym przypadku, dla potrzeb dalszych analiz zgrupowano razem preparaty ze stopniem nasilenia ekspresji 2 i 3.

Nie stwierdzono istotnych statystycznie zależności pomiędzy zaawansowaniem sklerotyzacji i proliferacji mezangium a nasileniem ekspresji PARP-1. Wyniki analizy przedstawiono w Tabeli 4-21.

Tabela 4-21. Rozkład obserwowanej sklerotyzacji i proliferacji mezangium w zależności od intensywności reakcji immunohistochemicznej dla PARP-1 w kłębuszkach. Opis parametrów histopatologicznych przedstawiono jako mediana [IQR].

Parametr oceny histopatologicznej	Stopień nasilenia ekspresji PARP-1			p
	0 (n=12)	1 (n=20)	2 lub 3 (n=13)	
Odsetek niezmiennych kłębuszków	18 [5–38]	24 [3–41]	31 [20–49]	0,391
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 5–50%	47 [38–50]	34 [28–44]	42 [31–46]	0,069
w tym:				
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją <10%	0 [0–0]	0 [0–0]	0 [0–13]	0,270
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 10–25%	35 [6–46]	24 [14–34]	17 [0–22]	0,100
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 25–50%	8 [0–31]	0 [0–15]	19 [8–27,5]	0,121
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 50–100%	29 [15–50]	24 [9–38]	12,5 [0–40]	0,396
w tym:				
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 50–90%	0 [0–5]	0 [0–3]	0 [0–8]	0,891
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 100%	22 [14–42]	18 [8–34]	11 [0–24]	0,251
Odsetek kłębuszków z proliferacją mezangium	8 [0–41,5]	30 [0–46]	30 [21–19]	0,382

Tabela 4-22. Rozkład intensywności reakcji immunohistochemicznej dla PARP-1 w zależności od nasilenia arteriolosklerozy ($p=0,449$).

Stopień nasilenia ekspresji PARP-1	stopień nasilenia arteriolosklerozy			
	0	1	2	3
0	3	4	4	1
1	5	3	9	3
2+3	7	1	4	1

Tabela 4-23. Obserwowany stopień włóknienia i zaniku cewek w zależności od intensywności reakcji immunohistochemicznej dla PARP-1 w nabłonku cewek.

Parametr oceny histopatologicznej	Stopień nasilenia ekspresji PARP-1			p
	1 (n=18)	2 (n=18)	3 (n=11)	
% włóknienia	16,5 [5–20]	12 [5–20]	15 [0–20]	0,646
% zaniku cewek	16,5 [0–20]	3 [0–20]	0 [0–19]	0,563

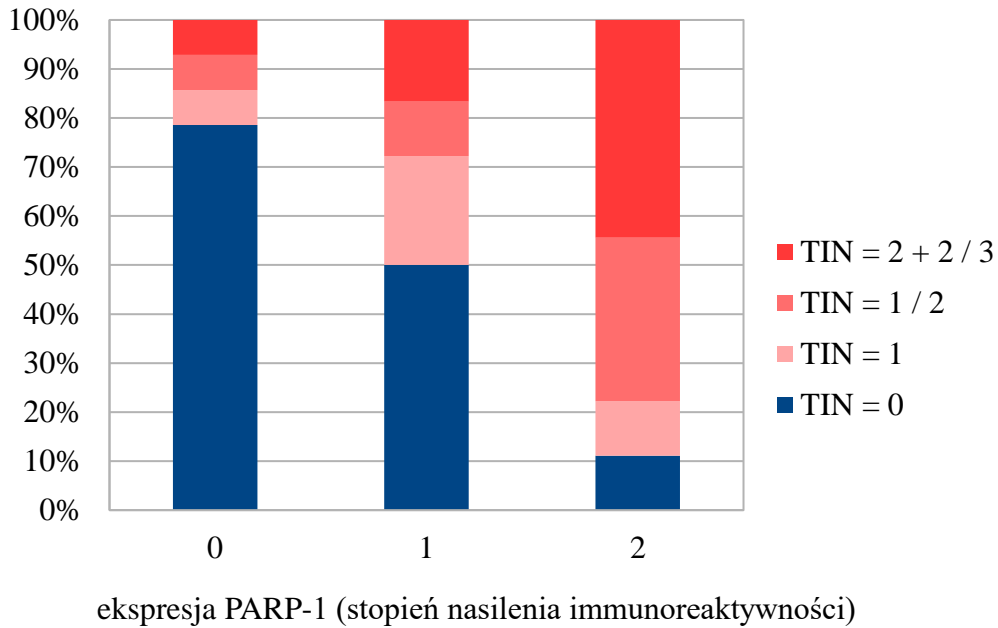
Nie stwierdzono również statystycznie istotnej zależności pomiędzy nasileniem immunoreaktywności PARP-1, a nasileniem arteriolosklerozy ($p=0,449$) (Tabela 4-22).

Podsumowując, nie stwierdzono zależności pomiędzy nasileniem immunoreaktywności PARP-1, a cechami morfologicznymi kłębuszków nerkowych.

Przeanalizowano również związek pomiędzy ekspresją PARP-1 w nabłonku cewek, a obserwowanym stopniem włóknienia oraz zaniku cewek. Nie stwierdzono istotnych statystycznie zależności pomiędzy powyższymi parametrami (Tabela 4-23).

Oceniono związek pomiędzy stopniem nasilenia ekspresji PARP-1 w śródmiąższowym nacieku zapalnym, a nasileniem stwierdzonych zmian zapalnych cewkowo-śródmiąższowych o charakterze przewlekłym w obrębie śródmiąższu (TIN). Wykazano, że istnieje związek pomiędzy rozkładami wartości dla obu parametrów ($p=0,042$). Ekspresję PARP-1 w śródmiąższowym nacieku zapalnym obserwowano częściej i w większym nasileniu w przypadku większego nasilenia stwierdzonych zmian zapalnych cewkowo-śródmiąższowych o charakterze przewlekłym (Rycina 4-7).

Rycina 4-7. Obecność i nasilenie TIN obserwowane w biopsjach w zależności od poziomu ekspresji PARP-1.



Dokładny rozkład nasilenia immunoreaktywności PARP-1, a nasileniem przewlekłych zmian zapalnych cewkowo-śródmiaższowych przedstawia Tabela 4-24.

Podsumowując, wykazano związek pomiędzy ekspresją PARP-1 w śródmiaższowym nacieku zapalnym, a nasileniem TIN. Nie stwierdzono zależności pomiędzy nasileniem intensywności reakcji immunohistochemicznej dla PARP-1, a pozostałymi parametrami histopatologicznymi.

Tabela 4-24. Rozkład intensywności reakcji immunohistochemicznej dla PARP-1 w śródmiaższowym nacieku zapalnym w zależności od obecności i nasilenia TIN ($p=0,042$).

Stopień nasilenia ekspresji PARP-1	TIN			
	0	1	1 / 2	2 + 2 / 3
0	11	1	1	1
1	9	4	2	3
2	1	1	3	4

4.10 Ekspresja IDO-1 w biopsjach nerek w pierwotnym i wtórnym FSGS

Ocenę ekspresji IDO-1 w badanych biopsjach przeprowadzono u 52 chorych. Na Rycinach 4-8–4-11 przedstawiono reprezentatywne mikrofotografie obrazujące immunoreaktywność IDO-1 w analizowanych biopsjach. Diagnostycznie reprezentatywną immunoreaktywność IDO-1 uzyskano dla 48 chorych (93%). Uzyskane wyniki barwienia immunohistochemicznego w kierunku IDO-1 zebrano w Tabeli 4-25.

Tabela 4-25. Obserwowany poziom ekspresji IDO-1 w biopsjach nerek u chorych z FSGS.

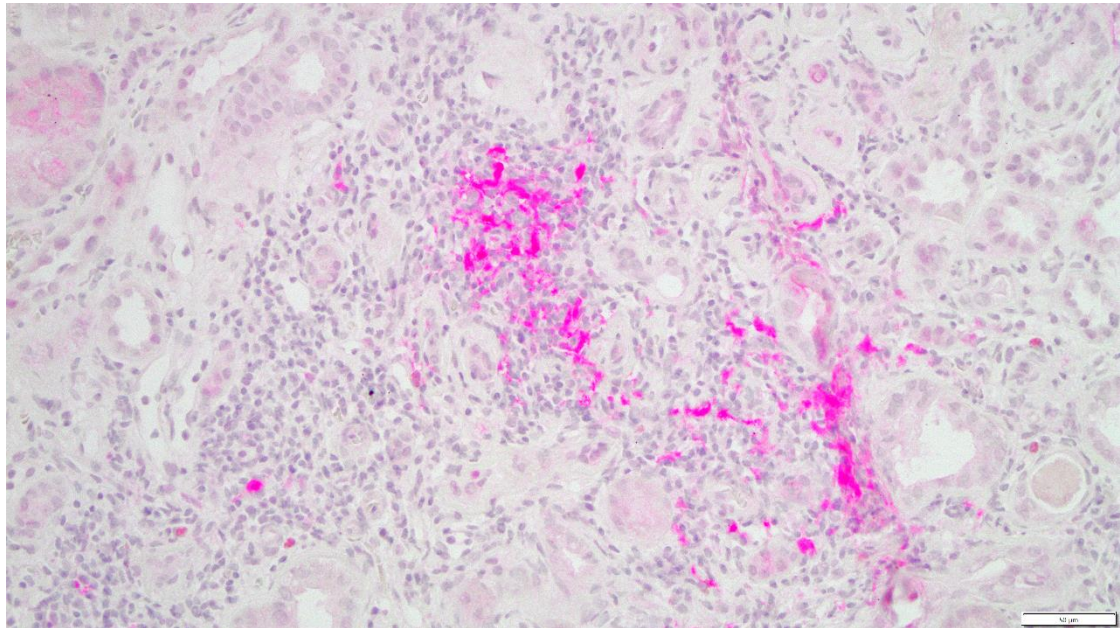
Kompartament	Stopień nasilenia ekspresji IDO-1		
	0	1	2
Kłębuszki	39 (81,2%)	9 (18,8%)	0
Nabłonek cewkowy	45 (93,7%)	2 (4,2%)	1 (2,1%)
Śródmiąższowy naciek zapalny	29 (60,4%)	18 (37,5%)	1 (2,1%)

Ekspresję IDO-1 stwierdzono w kłębuszkach w 9 biopsjach (18,8%) oraz w 19 (39,6%) biopsjach w obrębie śródmiąższowego nacieku zapalnego. Ponieważ w większości przypadków obserwowano niską immunoreaktywność IDO-1, dalsze analizy przeprowadzono bez rozbicia na stopień nasilenia ekspresji, porównując preparaty z jakimkolwiek stopniem nasilenia immunoreaktywności IDO-1 z preparatami, w których ta immunoreaktywność nie występowała. W nabłonku cewkowym wyłącznie w 3 biopsjach (6,3%) zaobserwowano ekspresję IDO-1. Ze względu na małą liczebność odstąpiono od dalszych analiz ekspresji w tym kompartmentcie.

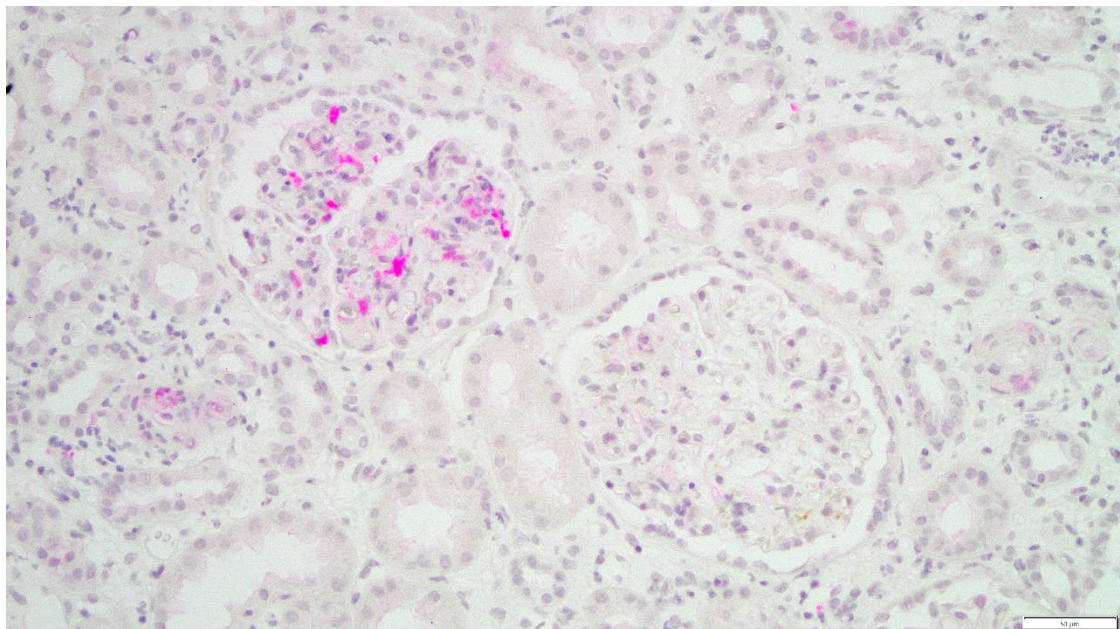
Nie stwierdzono istotnie statystycznej zależności pomiędzy obserwowaną ekspresją IDO-1 w kłębuszkach oraz nabłonku cewek ($p=0,109$).

Nie stwierdzono istotnych różnic pod względem intensywności ekspresji IDO-1 w poszczególnych częściach biopsjatu nerek w grupach pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS. Parametry oceny immunohistochemicznej stwierdzone w biopsjach nerek w grupach pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS przedstawia Tabela 4-26.

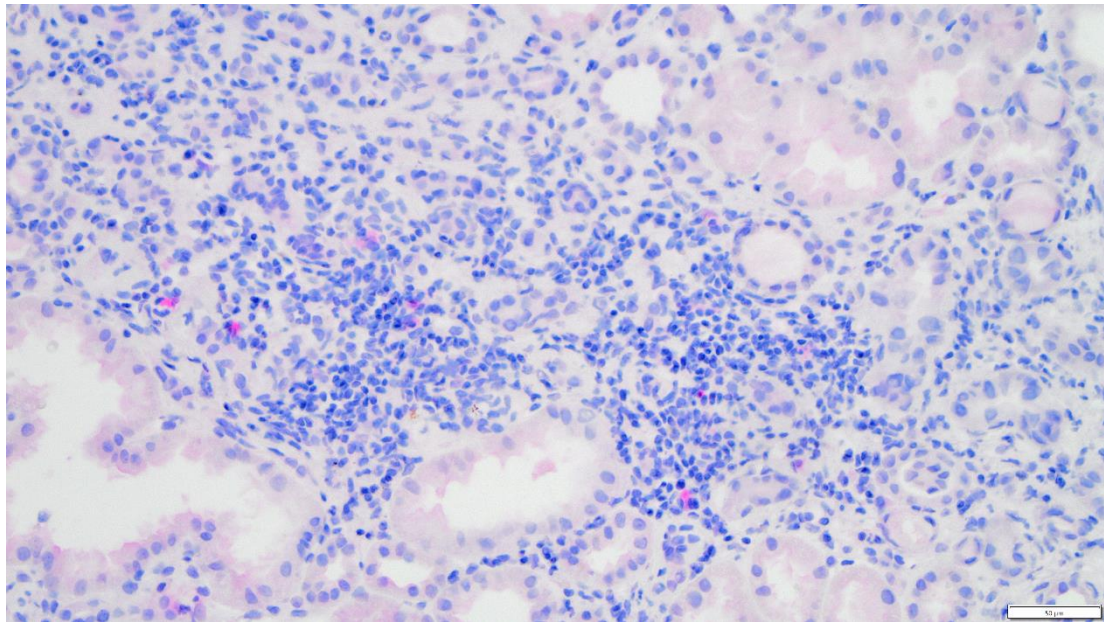
Rycina 4-8. Wysoka immunoreaktywność IDO-1 w komórkach śródmiąższowego nacieku zapalnego z punktową immunoreaktywnością w komórkach nabłonka cewkowego. Powiększenie 200x.



Rycina 4-9. Wysoka immunoreaktywność IDO-1 w obrębie pojedynczego kłębuszka. Powiększenie 200x.



Rycina 4-10. Punktowa immunoreaktywność w komórkach śródmiąższowego nacieku zapalnego. Powiększenie 200x.



Rycina 4-11. Pojedyncze dodatnie komórki śródmiąższowego nacieku zapalnego. Powiększenie 200x.

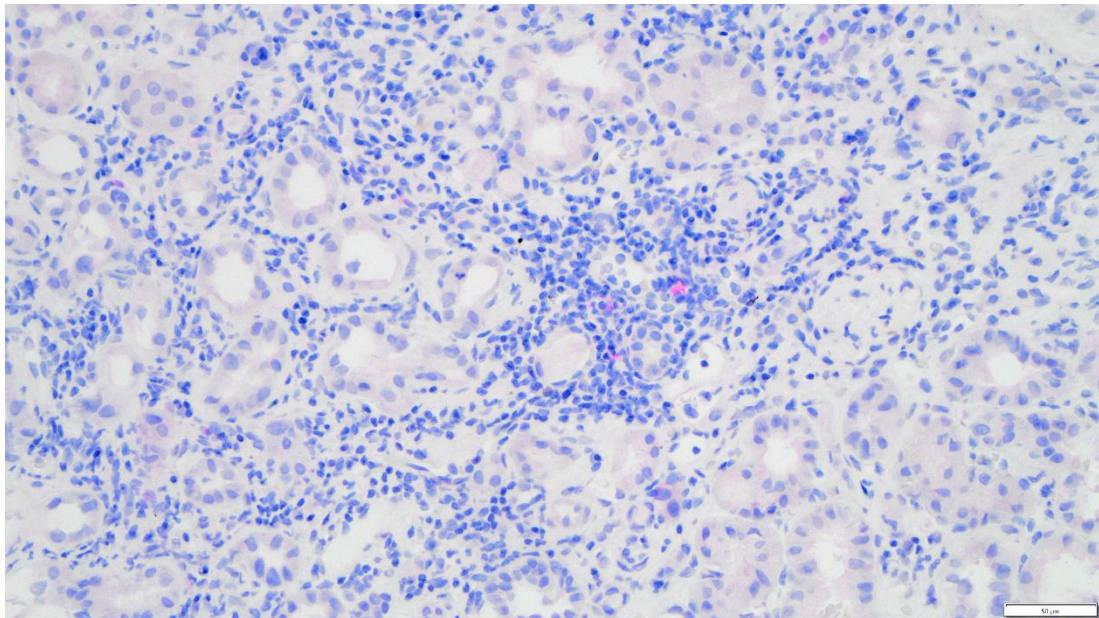


Tabela 4-26. Ekspresja IDO-1 stwierdzona w bioptatach nerek w grupach pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS.

kompartment	FSGS	Stopień nasilenia ekspresji IDO-1			P
		0	1	2	
Kłębuszki	Pierwotny (n=32)	27	6	0	0,882
	Wtórny (n=13)	12	3	0	
Śródmiąższowy naciek zapalny	Pierwotny (n=33)	21	12	0	0,299
	Wtórny (n=15)	8	6	1	

4.11 Zaawansowanie zmian histopatologicznych FSGS w zależności od ekspresji IDO-1 w biopsjach nerek

Przeprowadzono analizę mającą na celu ocenę występowania zależności pomiędzy stwierdzonymi parametrami oceny histopatologicznej, a obserwowaną ekspresją IDO-1. Oceniono związek pomiędzy ekspresją IDO-1 w kłębuszkach, a stopniem sklerotyzacji, odsetkiem kłębuszków z proliferacją mezangium, a także arteriolosklerozą.

Nie stwierdzono istotnych statystycznie zależności pomiędzy natężeniem sklerotyzacji i proliferacji komórek mezangium, a obserwowaną ekspresją IDO-1 w kłębuszkach. Wyniki analizy przedstawiono w Tabeli 4-27.

Nie stwierdzono również statystycznie istotnej zależności pomiędzy nasileniem immunoreaktywności IDO-1, a zaawansowaniem arteriolosklerozy ($p=0,820$). Dokładny rozkład nasilenia immunoreaktywności IDO-1 i nasilenia arteriolosklerozy przedstawia Tabela 4-28.

Podsumowując, nie stwierdzono zależności pomiędzy ekspresją IDO-1, a cechami morfologicznymi kłębuszków nerkowych.

Oceniono związek pomiędzy ekspresją IDO-1 w śródmiąższowym nacieku zapalnym, a nasileniem zapalnych zmian cewkowo-śródmiąższowych (TIN). Wykazano, że istnieje związek pomiędzy tymi parametrami ($p=0,032$). Ekspresję IDO-1 w śródmiąższowym nacieku zapalnym obserwowano częściej w przypadku większego nasilenia przewlekłego śródmiąższowego nacieku zapalnego (Rycina 4-12).

Tabela 4-27. Rozkład obserwowanej sklerotyzacji i proliferacji mezangium w zależności od intensywności reakcji immunohistochemicznej dlaIDO-1 w kłębuszkach. Opis parametrów histopatologicznych przedstawiono jako mediana [IQR].

Parametr oceny histopatologicznej	Ekspresja IDO-1 w kłębuszkach		p
	nieobecna (n=39)	obecna (n=9)	
Odsetek niezmienionych kłębuszków	27 [8–47]	29 [18–39]	0,605
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 5–50%	40 [31–48]	44 [31–46]	0,643
w tym:			
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją <10%	0 [0–5]	0 [0–24]	0,589
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 10–25%	20 [0–36]	22 [0–33]	0,851
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 25–50%	10 [0–25]	14 [0–17]	0,793
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 50–100%	25 [12–47]	22 [0–26]	0,214
w tym:			
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 50–90%	0 [0–6]	0 [0–13]	0,361
Odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją 100%	18 [9–38]	12,5 [0–17]	0,121
Odsetek kłębuszków z proliferacją mezangium	27 [0–41]	22 [0–55]	0,786

Tabela 4-28. Ekspresja IDO-1 w kłębuszkach w zależności od nasilenia arteriosklerozy (p=0,820).

Ekspresja IDO-1 w kłębuszkach	stopień nasilenia arteriosklerozy			
	0	1	2	3
nieobecna	13	7	14	5
obecna	3	2	2	2

Rycina 4-12. Obecność i nasilenie TIN obserwowane w biopciatach w zależności od poziomu ekspresji IDO-1.

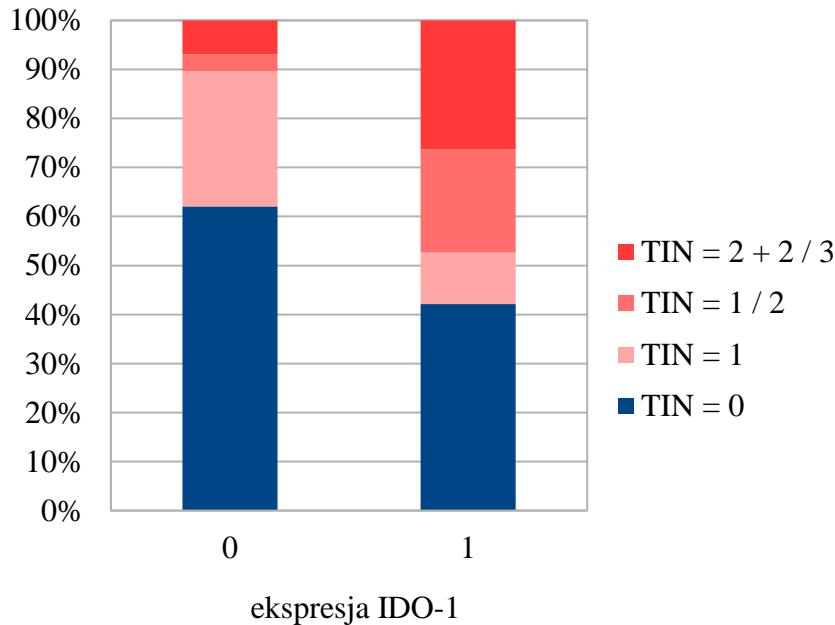


Tabela 4-29. Ekspresja IDO-1 w śródmiąższowym nacieku zapalnym w zależności od obecności i nasilenia TIN ($p=0,032$).

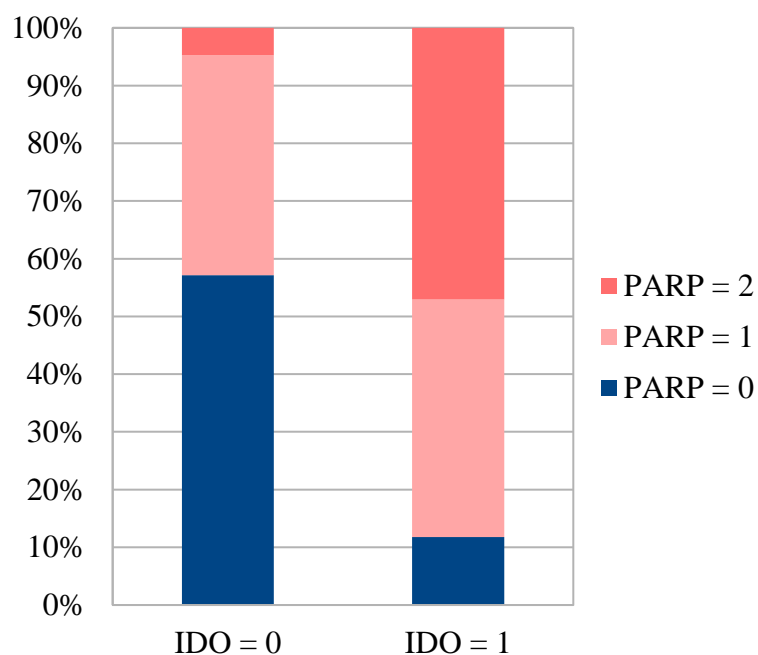
Ekspresja IDO-1	TIN			
	0	1	1/2	2 + 2/3
nieobecna	18	8	1	2
obecna	8	2	4	5

Zależność ekspresji IDO-1 od nasileniem zmian zapalnych cewkowo-śródmiąższowych o charakterze przewlekłym w obrębie śródmiąższu przedstawia Tabela 4-29.

Podsumowując, podobnie jak w przypadku PARP-1, wykazano związek pomiędzy ekspresją IDO-1 w śródmiąższowym nacieku zapalnym, a nasileniem TIN. Stwierdzono również istotną zależność pomiędzy ekspresją PARP-1 i IDO-1 (Rycina 4-13, $p=0,002$).

Nie stwierdzono zależności pomiędzy ekspresją IDO-1, a pozostałymi parametrami histopatologicznymi.

Rycina 4-13. Korelacja pomiędzy ekspresją badanych markerów w śródmiąższowym nacieku zapalnym ($p=0,002$)



4.12 Ocena przebiegu klinicznego choroby w zależności od ekspresji PARP-1 w biopsjach nerek – zależność pomiędzy nasileniem immunoreaktywności a parametrami laboratoryjnymi

Nie stwierdzono różnicy pomiędzy nasileniem ekspresji PARP-1 a czynnością nerek w czasie biopsji. Pacjenci z upośledzoną czynnością nerek i z prawidłową funkcją nerek nie różnili się między sobą. Dokładne dane przedstawiono w Tabeli 4-30.

Podobnie nie stwierdzono zależności pomiędzy nasileniem ekspresji PARP-1 a nasileniem białkomoczu oraz zespołem nerczycowym. Wyniki przedstawiono w Tabeli 4-31.

Tabela 4-30. Rozkład intensywności reakcji immunohistochemicznej PARP-1 w stosunku do czynności filtracyjnej nerek w czasie biopsji

kompartment	upośledzenie funkcji w czasie biopsji	stopień nasilenia ekspresji PARP-1				p
		0	1	2	3	
Kłębuszki	nie	2	8	6	1	0,193
	tak	10	12	6	0	
Nabłonek cewkowy	nie	0	6	8	5	0,736
	tak	0	12	10	6	
Śródmiąższowy naciek zapalny	nie	8	7	1	0	0,087
	tak	6	11	8	0	

Tabela 4-31. Rozkład intensywności reakcji immunohistochemicznej PARP-1 w zależności od białkomoczu w okresie okołobiopsyjnym.

kompartment	Białkomocz	Stopień nasilenia ekspresji PARP-1				p
		0	1	2	3	
Kłębuszki	UPCR <0,3	1	2	1	0	0,696
	UPCR 0,3-3,5	8	12	5	0	
	UPCR >3,5 (zespół nerczycowy)	3	6	6	1	
Nabłonek cewkowy	UPCR <0,3	0	1	1	1	0,817
	UPCR 0,3-3,5	0	12	9	7	
	UPCR >3,5 (zespół nerczycowy)	0	5	8	3	
Śródmiąższowy naciek zapalny	UPCR <0,3	1	0	1	0	0,737
	UPCR 0,3-3,5	8	10	5	0	
	UPCR >3,5 (zespół nerczycowy)	5	8	3	0	

4.13 Ocena przebiegu klinicznego choroby w zależności od obecności IDO-1 w biopsjach – zależność pomiędzy nasileniem immunoreaktywności a parametrami laboratoryjnymi

Stwierdzono różnicę pomiędzy czynnością nerek w okresie okołobiopsyjnym a obserwowaną ekspresją IDO-1 w śródmiąższowym nacieku zapalnym (Tabela 4-32, $p=0,020$). U pacjentów, u których stwierdzono ekspresję IDO-1 w śródmiąższowym nacieku zapalnym, obserwowano wyższe stężenie kreatyniny w okresie okołobiopsyjnym (mediana 1,9 [1,5–2,8] vs 1,1 [0,9–1,8], $p=0,004$).

W przeprowadzonej analizie nie stwierdzono zależności pomiędzy ekspresją IDO-1 a nasileniem białkomoczu oraz zespołem nerczycowym w okresie okołobiopsyjnym. Wyniki przedstawiono w Tabeli 4-33.

Tabela 4-32. Ekspresja IDO-1 w zależności do czynności filtracyjnej nerek w okresie okołobiopsyjnym

kompartment	Pogorszenie funkcji w czasie biopsji	Ekspresja IDO-1		p
		nieobecna	obecna	
Kłębuszki	nie	16	4	0,853
	tak	23	5	
Śródmiąższowy naciek zapalny	nie	16	4	0,020
	tak	13	15	

Tabela 4-33. Ekspresja IDO-1 w zależności od białkomoczu w okresie okołobiopsyjnym.

kompartment	Białkomocz	Ekspresja IDO-1		p
		nieobecna	obecna	
Kłębuszki	UPCR <0,3	3	1	0,845
	UPCR 0,3-3,5	25	5	
	UPCR >3,5 (zespół nerczycowy)	10	3	
Śródmiąższowy naciek zapalny	UPCR <0,3	3	1	0,750
	UPCR 0,3-3,5	18	12	
	UPCR >3,5 (zespół nerczycowy)	7	6	

4.14 Ocena przebiegu klinicznego FSGS

Dane dotyczące przebiegu klinicznego po wykonaniu biopsji były dostępne dla 47 pacjentów (90,4%), w tym dla 32 pacjentów z pierwotnym FSGS i 15 pacjentów z wtórnym FSGS. W czasie obserwacji 21 pacjentów utraciło czynność nerek, w tym istotnie częściej w grupie z wtórnym FSGS (73%) niż w grupie z pierwotnym FSGS (31%) ($p=0,007$). Czas od wykonania biopsji do utraty czynności nerek wynosił od 4 do 83 miesięcy (mediana 23 [10–54,5], średnia $39,9\pm 23,7$). Czas do utraty czynności nerek nie różnił się istotnie pomiędzy pacjentami z pierwotnym i wtórnym FSGS (mediana 21 [11–39] vs 32 [10–55,5] miesięcy, $p=0,526$). U 26 pacjentów czynność nerek była zachowana do końca czasu obserwacji, który wynosił od 8 do 32 miesięcy (mediana 73 [56–99], średnio $6,9\pm 30,3$).

4.14.1 Ocena stanu klinicznego pacjentów po roku od biopsji

W rocznej obserwacji u 6 pacjentów z grupy pierwotnego FSGS doszło do pogorszenia czynności nerek (definiowanego jako podwyższenie stężenia kreatyniny o 25% od wartości początkowej), z czego 3 osoby utraciły funkcję nerek w czasie pierwszego roku obserwacji. U 9 pacjentów czynność nerek była stabilna. U jednego pacjenta doszło do poprawy funkcji filtracyjnej nerek.

W grupie z wtórnym FSGS u 11 pacjentów doszło do pogorszenia czynności nerek (z czego 2 osoby utraciły czynność nerek), u 2 do poprawy, a u 2 osób czynność nerek była stabilna.

Po roku obserwacji białkomocz subnerczycowy stwierdzono u 17 pacjentów: u 12 z 22 chorych z pierwotnym FSGS i u 5 z wtórnym FSGS. Białkomocz nerczycowy był stwierdzony u 4 osób wyłącznie w grupie chorych z pierwotnym FSGS.

W czasie całego okresu obserwacji obecność zespołu nerczycowego nie wiązała się z ryzykiem utraty czynności nerek w grupie z pierwotnym FSGS ($p=0,297$) oraz w grupie z wtórnym FSGS ($p=0,460$).

Spośród osób w grupie z pierwotnym FSGS z zespołem nerczycowym w momencie biopsji uzyskano po roku remisję częściową u 6 osób (u 3 pacjentów nastąpił nawrót w późniejszym okresie) oraz remisję całkowitą u 4 osób (u 3 osób nastąpił nawrót w późniejszym okresie). U 5 pacjentów nerczycowy białkomocz występował niezmiennie w trakcie całej obserwacji.

Tabela 4-34. Wyniki badań laboratoryjnych u pacjentów z zachowaną funkcją nerek po roku od biopsji oraz ich odniesienie do wyników z okresu okołobiopsyjnego.

	Średnia+/-SD	Mediana [IQR]	Zmiana w stosunku do okresu okołobiopsyjnego	p
Leukocyty [tys. kom./ μ l]	8,75 \pm 3,27	8,9 [5,6–11,2]		0,509
Neutrofile [tys. kom./ μ l]	6,28 \pm 3,23	6,0 [3,3–7,9]		0,257
Limfocyty [tys. kom./ μ l]	1,96 \pm 0,93	1,8 [1,5–2,1]		0,542
Monocyty [tys. kom./ μ l]	0,57 \pm 0,24	0,6 [0,4–0,8]		0,360
Eozynofile [tys. kom./ μ l]	0,111 \pm 0,089	0,09 [0,06–0,13]		0,879
Erytrocyty [mln kom./ μ l]	4,55 \pm 0,56	4,5 [4,2–5,1]		0,793
Płytki krwi [mln/ μ l]	242,8 \pm 66,3	240 [191–292]		0,199
Albumina [g/dl]	3,71 \pm 0,61	3,65 [3,3–4,2]	Wzrost	0,011
Białko całkowite [g/dl]	6,17 \pm 0,86	6,0 [5,8–6,9]		0,057
Bilirubina całkowita [mg/dl]	0,64 \pm 0,33	0,7 [0,3–0,9]		0,195
Cholesterol całkowity [mg/dl]	263,1 \pm 68,9	256 [222–289,5]	Spadek	0,030
Białko C reaktywne [mg/l]	4,33 \pm 8,79	1,1 [0,4–2,9]		0,301
EGFR [ml/min/1,73m ²]	52,7 \pm 25,3	54 [32–77]	Wzrost	0,005
Kreatynina [mg/dl]	1,82 \pm 1,14	1,4 [1,0–2,2]	Spadek	0,006
Kwas moczowy [mg/dl]	7,52 \pm 1,25	7,7 [6,6–8,4]		0,073
Mocznik [mg/dl]	70,0 \pm 32,7	53,5 [43–81]		0,110
OB [mm/h]	19,9 \pm 16,0	15 [7–27]		0,091
UPCR	1,51 \pm 1,56	1,1 [0,5–2,3]	Spadek	0,043

W grupie z wtórnym FSGS białkomocz utrzymywał się na niezmiennym poziomie u 11 pacjentów, a u 3 osiągnięto remisję całkowitą białkomoczu.

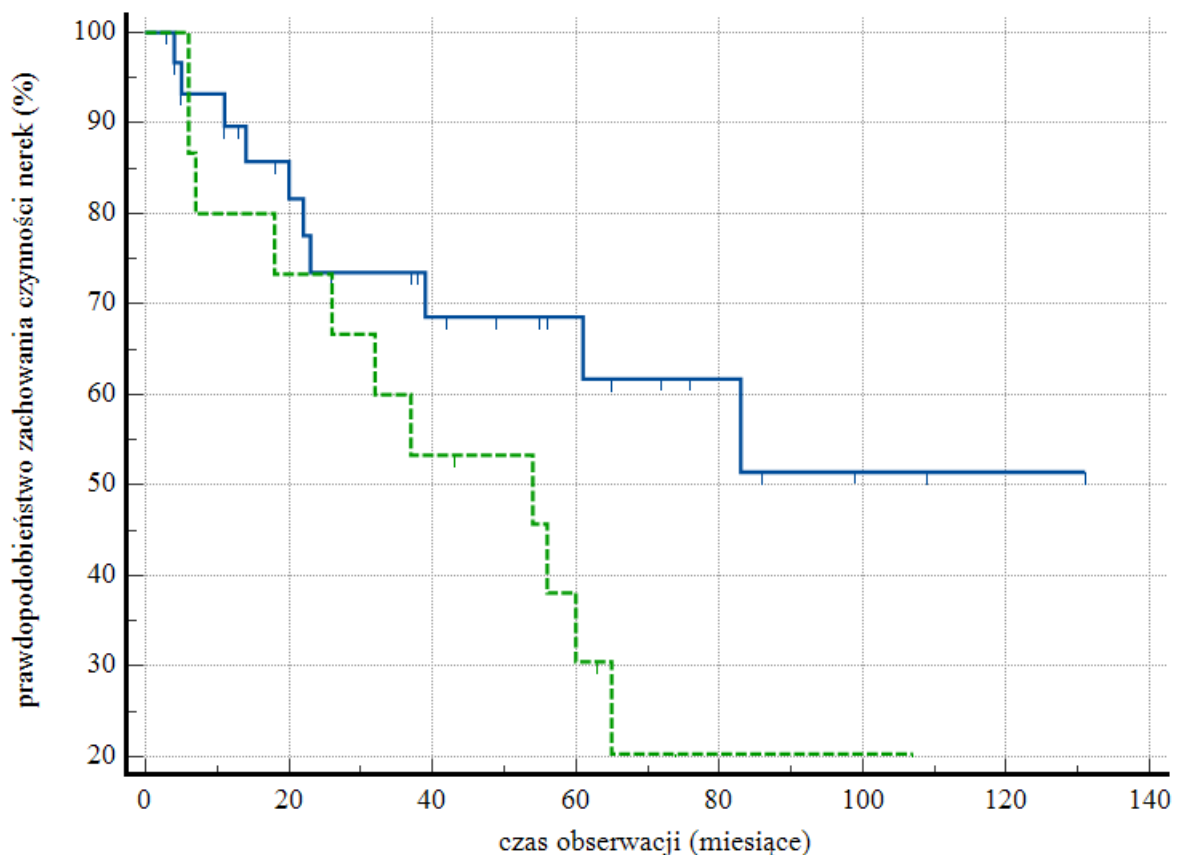
Szczegółowe dane laboratoryjne po roku od wykonania biopsji były dostępne dla 28 osób, które zachowały czynność nerek (22 osób z pierwotnym oraz 6 z wtórnym FSGS, Tabela 4-34).

Wartości po roku porównano do danych z okresu okołobiopsyjnego (Tabela 4-1). Wśród pacjentów z zachowaną czynnością nerek po roku leczenia zaobserwowano niewielki ok. 10% spadek stężenia kreatyniny w surowicy krwi (1,4 [1,0–2,2] vs 1,55 [1,0–2,4], $p=0,006$) oraz wzrost eGFR (54 [32–77] vs 49 [30–78]), za wyjątkiem 5 pacjentów, u którym w tym okresie doszło do utraty czynności nerek. Zaobserwowano ponadto spadek białkomoczu (UPCR 1,1 [0,5–2,3] vs 1,9 [0,9–3,9], $p=0,043$), przy równoczesnym wzroście stężenia albuminy (3,6 [3,3–4,2] vs 3,3 [2,9–3,9], $p=0,011$). Stężenie cholesterolu całkowitego w surowicy uległ również obniżeniu (256 [222–289,5] vs 270 [210–355], $p=0,030$).

4.14.2 Analiza zachowania czynności nerek w kilkuletniej obserwacji

W analizie przeżycia wykazano dłuższe zachowanie czynności nerek u pacjentów z rozpoznaniem pierwotnego FSGS ($p=0,008$). Na Rycinie 4-14 przedstawiono porównanie prawdopodobieństwa zachowania funkcji nerki od czasu wykonania biopsji i rozpoznania choroby w zależności od typu FSGS.

Rycina 4-14. Porównanie prawdopodobieństwa zachowania czynności nerek w zależności od typu FSGS ($p=0,008$); linia niebieska – FSGS pierwotny, linia zielona (przerywana) – FSGS wtórny.



4.14.2.1 Analiza parametrów laboratoryjnych - wpływ na rokowanie

W oparciu o macierz korelacji (Rycina 4-15) pomiędzy podstawowymi parametrami laboratoryjnymi w okresie okołobiopsyjnym do analizy związku z rokowaniem wybrano stężenia kreatyniny i kwasu moczowego w surowicy oraz białkomocz dobowy (UPCR) jako zmienne niezależne.

Rycina 4-15. Korelacje pomiędzy podstawowymi parametrami laboratoryjnymi w okresie okołobiopsyjnym.

Stężenie kreatyniny	Stężenie kwasu moczowego	Stężenie białka całkowitego	Stężenie albuminy	Stężenie cholesterolu całkowitego	UPCR	
r=0,83 p<0,001	r=0,13 p=0,370	r=-0,11 p=0,441	r=-0,08 p=0,552	r=0,14 p=0,312	r=0,16 p=0,260	Stężenie mocznika
	r=0,08 p=0,581	r=0,06 p=0,657	r=0,10 p=0,505	r=-0,12 p=0,407	r=0,09 p=0,551	Stężenie kreatyniny
		r=-0,01 p=0,923	r=0,01 p=0,961	r=0,01 p=0,937	r=-0,04 p=0,758	Stężenie kwasu moczowego
			r=0,95 p<0,001	r=-0,63 p<0,001	r=-0,75 p<0,001	Stężenie białka całkowitego
				r=-0,64 p<0,001	r=-0,78 p<0,001	Stężenie albuminy
					r=0,62 p<0,001	Stężenie cholesterolu całkowitego

Korzystając z regresji proporcjonalnego hazardu Cox'a (Tabela 4-35), wykazano, że czynność nerek w okresie okołobiopsyjnym, czyli w chwili rozpoznania FSGS, jest zmienną determinującą przeżycie nerek (HR 11,8, 95% CI 4,3–32,7, $p < 0,001$). Zaobserwowano również niekorzystny wpływ rozpoznania wtórnego FSGS (HR 3,4, 95% CI 1,0–10,9, $p = 0,042$) oraz białkomoczu dobowego (UPCR, HR 1,6, 95% CI 1,2–2,0, $p < 0,001$).

Tabela 4-35. Wyniki regresji proporcjonalnego hazardu Cox'a – analiza wpływu parametrów laboratoryjnych oraz typu FSGS na obserwowane przeżycie nerek.

Parametr laboratoryjny	HR	95% CI	p
Stężenie kreatyniny w surowicy krwi	11,8	4,3–32,7	<0,001
Wtórny FSGS	3,4	1,0–10,9	0,042
UPCR	1,6	1,2–2,0	<0,001
stężenie kwasu moczowego w surowicy krwi			0,318

Wpływ stężenia kreatyniny w surowicy krwi oraz białkomoczu dobowego na przeżycie nerek był widoczny również podczas analizy w podgrupach z pierwotnym i wtórnym FSGS (Tabela 4-36).

Tabela 4-36. Wyniki regresji proporcjonalnego hazardu Cox'a – analiza wpływu parametrów laboratoryjnych na obserwowane przeżycie nerek w zależności od typu FSGS.

FSGS	Parametr laboratoryjny	HR	95% CI	p
pierwotny	Stężenie kreatyniny w surowicy krwi	9,5	2,7–33,9	<0,001
	UPCR	1,5	1,1–2,0	0,015
wtórny	Stężenie kreatyniny w surowicy krwi	8,6	1,6–45,9	0,012
	UPCR	2,0	1,1–3,8	0,030

4.14.2.2 *Analiza parametrów histopatologicznych i ekspresji biomarkerów - wpływ na rokowanie*

W analizie jednoczynnikowej wykazano potencjalny związek z przeżyciem nerek w przypadku następujących parametrów histopatologicznych:

- TIN – HR 4,0 (95% CI 2,1–7,6), $p < 0,001$;
- % włóknienia – HR 2,1 (95% CI 1,4–3,2) / każde 10%, $p < 0,001$;
- % zaniku cewek – HR 1,6 (95% CI 1,2–2,1) / każde 10%, $p = 0,002$;
- odsetek nasilonej sklerotyzacji kłębuszków (50–100%) – HR 1,54 (95% CI 1,1–2,2) / każde 20% , $p = 0,022$;
- odsetek kłębuszków niezmiennych – HR 0,44 (95% CI 0,2–0,9) / każde 20%, $p = 0,025$;
- a także w ekspresji PARP-1 (HR 2,2, 95% CI 1,2–4,4, $p = 0,006$) oraz IDO-1 (HR 3,2, 95% CI 1,4–7,4, $p = 0,006$) w śródmiąższowym nacieku zapalnym.

4.14.2.3 *Czynniki prognozujące funkcję nerek u pacjentów z FSGS*

Analizę wpływu parametrów laboratoryjnych z okresu okołobiopsyjnego oraz obrazu histopatologicznego bioptatu uzupełniono o analizę związku stosowanego leczenia z zachowaniem funkcji nerek. W szczególności przeanalizowano wpływ stosowanej profilaktyki nefroprotekccyjnej inhibitorami konwertazy angiotensyny. Nie udało się zaobserwować istotnego statystycznie wpływu stosowania ACEI na zachowanie czynności nerek ($p = 0,071$). Podobnie, w przypadku pacjentów z rozpoznaniem pierwotnego FSGS nie wykazano istotnego statystycznie zróżnicowania w przeżyciu czynności nerek w zależności od stosowanej immunosupresji ($p = 0,210$).

Ze względu na silne zależności pomiędzy poszczególnymi elementami obrazu histopatologicznego oraz ekspresją biomarkerów, przeanalizowano modele zawierające poszczególne parametry histopatologiczne oraz kreatyninę i białkomocz dobowy obserwowane w okresie okołobiopsyjnym. W żadnym z modeli nie wykazano, by parametr histopatologiczny lub ekspresja biomarkera w sposób istotny statystycznie wpływała na ryzyko utraty funkcji nerek w zestawieniu z kreatyniną i białkomoczem obserwowanym w okresie okołobiopsyjnym.

5 Dyskusja

5.1 Porównanie grup badanych: pierwotnego i wtórnego FSGS

5.1.1 Parametry kliniczne

Pierwotny FSGS jest jednym z najczęstszych rozpoznań biopsji nerki oraz jedną z najczęstszych przyczyn zespołu nerczycowego [2,3]. Wtórny FSGS, będący wynikiem uszkodzenia podocytów przez toksyczne działania leków, zakażenia wirusowe czy zmiany adaptacyjne w przebiegu hiperfiltracji, jest jeszcze częściej rozpoznawany [8]. Pomimo, iż obraz kliniczny tych dwóch patologii zwykle jest odmienny (zespół nerczycowy jako typowo obraz pierwotnego FSGS, a białkomocz subnerczycowy we wtórnym FSGS) to jednak w konkretnych przypadkach odróżnienie pierwotnego i wtórnego FSGS bywa trudne, a jest ono niezbędne do ustalenia prawidłowego leczenia. Pierwotny FSGS, jako choroba o podłożu autoimmunologicznym, jest wskazaniem do leczenia immunosupresyjnego. Pacjenci z wtórnym FSGS powinni odnieść korzyść z terapii nefroprotekcijnej. Według definicji KIDGO rozpoznanie wtórnego FSGS stawiane, jest poza obrazem klinicznym, na podstawie stwierdzenia obecności czynników, prowadzących do uszkodzenia podocytów [8].

Naszą grupę badaną stanowiło 32 pacjentów z pierwotnym FSGS i 15 pacjentów z wtórnym FSGS. U pacjentów z pierwotnym FSGS istotnie częściej obserwowaliśmy cechy zespołu nerczycowego (z obniżeniem stężenia białka całkowitego, albuminy i zwiększeniem stężenia cholesterolu całkowitego oraz bardziej nasilonym białkomoczem) w porównaniu z pacjentami z wtórnym FSGS. Pozostałe parametry laboratoryjne, w tym czynność nerek nie różniły się istotnie pomiędzy badanymi grupami. Podobnie jak w pracach innych autorów: pacjenci z pierwotnym FSGS różnili się od pacjentów z wtórnym FSGS tylko wykładnikami zespołu nerczycowego [117–121].

5.1.1.1 Funkcja filtracyjna nerek w okresie okołobiopsyjnym

W naszym badaniu czynność nerek w czasie biopsji w sposób istotny wiązała się przeżyciem nerek. Średnie stężenie kreatyniny w surowicy krwi u pacjentów w czasie diagnostyki biopsyjnej wynosiło 1,79 mg/dl. Pacjenci z upośledzoną czynnością nerek w okresie biopsji (definiowaną jako stężenie kreatyniny >1,3 mg/dl) mieli istotnie częstszą utratę czynności nerek w trakcie obserwacji. Przy analizie w podgrupach, z pierwotnym i wtórnym FSGS zachowanie czynności nerek również istotnie zależało od czynności nerek w momencie biopsji, choć grupie z wtórnym FSGS mała liczebność w grupie nie pozwoliła na

osiągnięcie istotności statystycznej. Wyniki te są zgodne z pracami innych autorów, niezależnie od tego czy analizowali oni grupy pacjentów wyłącznie z pierwotnym FSGS, czy również z obecnością pacjentów z wtórnym FSGS.

W pracy Rydel i wsp. upośledzenie czynności nerek było niezależnym czynnikiem prognostycznym utraty funkcji filtracyjnej nerek w tym badaniu badanej w okresie biopsji stężenie kreatyniny wynosiło 2,1 mg/dl [117]. Stirling i wsp. w badaniu z udziałem 136 chorych z pierwotnym FSGS wykazali, że stężenie kreatyniny w surowicy krwi w okresie okołobiopsyjnym przewiduje utratę czynności nerek [122], podobne rezultaty opublikował Swarnalatha i wsp. [123].

W badaniu europejskim upośledzona funkcja filtracyjna nerek była czynnikiem niekorzystnym rokowniczo [124]. Podobnie w populacji azjatyckiej stężenie kreatyniny w surowicy krwi w momencie biopsji było jedynym predyktorem postępu choroby [118]. Tang i wsp. w populacji chińskiej z pierwotnym FSGS wykazali, że upośledzona czynność nerek w momencie biopsji, obecność przewlekłego zapalenia cewkowo-śródmiąższowego (TIN) oraz znaczne nasilenie zespołu nerczycowego były czynnikami ryzyka utraty czynności nerek w ciągu 5 lat [125]. Podobne wyniki opublikowali niedawno badacze z USA, opisując grupę 338 chorych [119]. Zhu i wsp. na podstawie obserwacji 99 chorych z FSGS opracowali model przewidujący czynność nerek w długotrwałej obserwacji, włączając do niego czynniki istotnie wpływające na przebieg kliniczny: eGFR, krwinkomocz oraz odsetek stwardniałych kłębuszków. Model ten wykazał bardzo dobrą zgodność przewidywania czynności nerek po 5 latach z rzeczywistymi wynikami eGFR [126]. Tylko w jednej pracy autorstwa Jafry i wsp. nie stwierdzono związku między upośledzeniem czynności nerek w momencie biopsji, a ryzykiem postępu choroby, w tym słabszą odpowiedzią na leczenie kortykosteroidami [127].

Podsumowując, podobnie jak w pracach innych autorów jak i w niniejszym badaniu upośledzona czynność nerek w czasie biopsji jest związana z niekorzystnym rokowaniem co do przebiegu klinicznego i postępu niewydolności nerek.

5.1.1.2 Nasilenie białkomoczu w okresie okołobiopsyjnym

W niniejszej pracy u 1/3 pacjentów z pierwotnym FSGS stwierdzono białkomocz nerczycowy, a u połowy białkomocz subnerczycowy. W grupie z wtórnym FSGS żaden chory nie prezentował cech zespołu nerczycowego. W obecnym badaniu wykazano, że występowanie zespołu nerczycowego w czasie biopsji było związane z ryzykiem progresji choroby, aż do wystąpienia schyłkowej niewydolności nerek w trakcie obserwacji.

O ile czynność nerek w czasie biopsji (jest w prawie wszystkich doniesieniach związana z ryzykiem progresji niewydolności nerek w pierwotnym FSGS, to dane dotyczące znaczenia białkomoczu nie są jednoznaczne.

W pracy badaczy z USA pacjenci z pierwotnym FSGS mieli gorsze przeżycie 5 i 10 letnie w przypadku stwierdzenia u nich zespołu nerczycowego w porównaniu do chorych z białkomoczem nienerczycowym. Należy pamiętać, że u pacjentów rasy czarnej, którzy w tym badaniu stanowili ponad połowę chorych częściej występuje wariant FSGS z zapadaniem pętli włosniczkowych, obarczony złym rokowaniem [117]. Catran i wsp. wykazali, że wystąpienie remisji białkomoczu jest niezależnym czynnikiem przewidującym zachowanie prawidłowej czynności nerek [128]. Podobne obserwacje opublikowali brytyjscy badacze [122]. W pracy Chun i wsp. obejmującą analizę 87 pacjentów z zespołem nerczycowym w pierwotnym FSGS, 63 pacjentów osiągnęło całkowitą remisję po leczeniu kortykosteroidami, a ich 10-letnie przeżycie wolne od leczenia nerkozastępczego było znacznie lepsze od chorych, którzy nie uzyskali remisji [129]. W pracy na populacji USA obejmującej dane dotyczące ponad 300 chorych z pierwotnym FSGS w wieloczynnikowej analizie wykazano, że nerczycowy białkomocz z hipoalbuminemią w czasie biopsji i brak remisji po leczeniu były związane z gorszym długoterminowym zachowaniem czynności nerek [119].

Jednakże w pracy Bagchi i wsp. opartej na analizie danych 116 pacjentach dorosłych z zespołem nerczycowym w przebiegu FSGS nasilenie białkomoczu nie przewidywało wystąpienia remisji choroby [130]. Inne badania również wykazały, że żaden z klinicznych parametrów w okresie biopsji, w tym hipoalbuminemia i nasilenie białkomoczu nie był predykcyjny do wystąpienia remisji białkomoczu [117,129]. W niedawno opublikowanej pracy obejmującej 390 pacjentów z FSGS nie stwierdzono wpływu żadnych parametrów laboratoryjnych, w tym stężenia albumin i białkomoczu na przebieg choroby [118]. Podobnie, nasilenie białkomoczu nie zostało ujęte w modelu przewidującym czynność nerek w długotrwałej obserwacji, który okazał się skuteczny w przewidywaniu czynności nerek po 5 latach [126].

Podsumowując, większość badaczy wskazuje, że nasilenie nerczycowego białkomoczu jest czynnikiem ryzyka niekorzystnego przebiegu FSGS. Moje obserwacje, podobnie jak inne opublikowane badania oparte na dużych grupach pacjentów, wskazują, że zarówno nasilenie białkomoczu, jak i upośledzona czynność nerek w momencie biopsji są czynnikami predykcyjnymi dla progresji niewydolności nerek. Nerczycowy białkomocz w większości przypadków jest wskazaniem do intensywnego leczenia immunosupresyjnego, które poprzez

zmniejszenie nasilenia stanu zapalnego w obrębie nerek zmniejsza progresję włóknienia. Pacjenci z subnerczycowym białkomoczem zwykle otrzymują tylko leczenie nefroprotektoryjne lekami blokującymi RAA, stąd wyraźniejszy postęp procesów włóknienia miąższu nerek, a tym samym postęp przewlekłej choroby nerek.

5.1.2 Ocena histopatologiczna bioptatów nerek u pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS

Badanie histopatologiczne bioptatu nerki nie różnicuje pomiędzy pierwotnym, a wtórnym FSGS [7]. W niniejszej pracy pacjenci włączeni do badania w bioptatach nerek mieli zdiagnozowany wariant NOS FSGS. Nie są znane częstości występowania poszczególnych wariantów w populacji polskiej [3].

W najnowszej publikacji poświęconej FSGS, w populacji azjatyckiej, NOS stanowił powyżej 70% rozpoznań [118]. W pracach autorów z Arabii Saudyjskiej u dorosłych pacjentów z zespołem nerczycowym przeważał podtyp z zapadaniem się pętli (69,9%), NOS stanowił (26%) [124]. W populacji europejskiej przeważał wariant wierzchołkowy (37%), 32% stanowił NOS, a 26% typ okołownękowy, a tylko 5% bioptatów opisano jako wariant z zapadaniem pętli. Wariant wierzchołkowy prognozował lepsze 5-letnie przeżycie nerek w porównaniu do innych wariantów [124]. W badaniach amerykańskich 42% rozpoznań stanowił NOS, który rzadziej powodował ciężki zespół nerczycowy. Najmniej nasilone zmiany cewkowo-śródmiażdżowe obserwowano u pacjentów z wariantem wierzchołkowym, a zmiany te były najbardziej nasilone w wariantcie z zapadaniem pętli. W dyskusji autorzy wysunęli hipotezę, że różne warianty FSGS są wynikiem różnych mechanizmów patogenetycznych o różnej etiologii, a nie stanowią spektrum przypadkowych zmian spowodowanych przez wspólny czynnik [131].

Wiele prac koncentrowało się na wykazaniu istotności określenia wariantu FSGS i jego wpływu na rokowanie. Jak wykazuje praca Ozeki i wsp. odpowiedź na leczenie pacjentów z zespołem nerczycowym w przebiegu FSG, których nie przypisano do żadnego wariantu według Klasyfikacji Columbia, jest podobna jak u pacjentów z wariantem wierzchołkowym lub komórkowym [132]. W pracy Kawaguchi wykazano, że pogorszenie czynności filtracyjnej nerek lub progresja do schyłkowej niewydolności nerek nie zależała od wariantu histologicznego FSGS [133]. Z kolei Swarnalatha i wsp. dodatkowo wykazali, że wariant z zapadaniem pętli naczyńowych prognozuje gorszą odpowiedź na leczenie i szybszą progresję do schyłkowej niewydolności nerek, co potwierdzają także niektórzy inni autorzy [123,124,131]. Przeciwnie, Chun i wsp. wykazali, że odsetek pacjentów, którzy osiągnęli

remisję nie różnił się pomiędzy poszczególnymi histologicznymi typami FSGS, w związku z czym autorzy wnioskowali, że nie można przewidzieć odpowiedzi na leczenie na podstawie typu histologicznego FSGS [129].

W moich badaniach wykazano istotną korelację pomiędzy zaawansowaną sklerotyzacją kłębuszków, a odsetkiem powierzchni śródmiąszu objętej włóknieniem i odsetkiem powierzchni objętej zanikiem cewek. Stwierdzono większe nasilenie obserwowanego włóknienia zrębu, zaniku kanalików nerkowych oraz obecność zapalenia cewkowo-śródmiąszowego (TIN) u pacjentów z upośledzeniem czynności nerek w okresie biopsji. W grupie pacjentów z obecnością TIN obserwowano istotnie częściej sklerotyzację kłębuszków, a także większy odsetek powierzchni śródmiąszu objętej włóknieniem oraz zanikiem cewek. Jednakże nie stwierdzono istotnej różnicy w parametrach oceny histopatologicznej biopsjatu nerek między grupami pacjentów z zespołem nerczycowym, lub białkomoczem o mniejszym nasileniu.

Z uwagi na wysoką korelację pomiędzy zmianami wstecznymi w biopsatach, takimi jak odsetek sklerotyzacji kłębuszków, powierzchni objętej włóknieniem i zanikiem cewek, do analizy wieloczynnikowej wybrano odsetek sklerotyzacji kłębuszków, jako reprezentatywny dla w/w zmian morfologicznych. Wykazano, że odsetek sklerotyzacji kłębuszków $> 50\%$ istotnie podnosi ryzyko wystąpienia niewydolności nerek.

Podobne do naszych wyniki opublikowali także inni autorzy. Rydel i wsp., wykazali, że nasilone włóknienie śródmiąszowe było niezależnym czynnikiem przewidującym utratę funkcji filtracyjnej nerek [117]. Opublikowano, że zapalenie śródmiąszowe było niezależnie związane z pogorszeniem długotrwałego przeżycia nerek. Postulowano, że długotrwałe zmiany śródmiąszowe powodują progresję włóknienia [118,119]. W populacji azjatyckiej obserwowano, że wyższy odsetek stwardniałych kłębuszków był razem ze zwłóknieniem śródmiąszu, ale nie z zanikiem cewek, niezależnym czynnikiem ryzyka dla wystąpienia schyłkowej niewydolności nerek w ciągu 10 lat [118]. W badaniach Forster i wsp. włóknienie śródmiąszowe i zanik cewek wraz z zapaleniem śródmiąszowym w chwili rozpoznania były związane z gorszym długoterminowym zachowaniem czynności nerek [119].

W niedawno opublikowanym badaniu grupy NEPTUNE wykazano, że najsilniejszymi czynnikami predykcyjnymi utraty funkcji filtracyjnej nerek było nasilenie stwardnienia kłębuszków oraz włóknienia śródmiąszu i zaniku cewek. Autorzy dodali nowe parametry prognostyczne: obecność śródmiąszowych komórek piankowatych i nacieku zapalnego

komórek jednojądrzastych, włóknienie okołokłębuszkowe, nieprawidłowości komórek śródbłonna oraz cechy ostrego uszkodzenia cewek [134].

Dodatkowo w niniejszej pracy wykazano, że złogi IgM były obecne we wszystkich bioptatach. W naszym badaniu ocena złogów C3 była wykonana jedynie w 5 bioptatach, z czego tylko w jednym przypadku stwierdzono obecność niedużego stopnia złogów w pojedynczym kłębuszku. W badaniu Aso i wsp. u prawie wszystkich pacjentów z zespołem nerczycowym stwierdzano zanik cewek i włóknienie śródmiąższu, a złogi IgM wykrywano w prawie połowie bioptatów [15]. Wykazano, że jednoczesne wykrycie złogów C3 i IgM prognozowało niekorzystny przebieg choroby [15]. Jednakże w pracy Woo i wsp. nie stwierdzono związku między obecnością złogów a przebiegiem klinicznym [118].

5.2 Znaczenie badanych biomarkerów dla obrazu klinicznego i przebiegu FSGS.

W niniejszej pracy zbadano ekspresję PARP-1 i IDO-1 w bioptatach nerek pacjentów z FSGS. IDO-1 jest związane z włóknieniem miąższu nerek po zadziałaniu czynnika uszkodzającego, a jego zablokowanie wydaje się mieć korzystny wpływ w ograniczeniu uszkodzenia niedokrwiennie-reperfuzyjnego. PARP-1 jest cząsteczką, która wpływa na szkodliwe procesy związane ze stresem oksydacyjnym i reakcją zapalną. Przeprowadzone badania sugerują, że może to być ważny mechanizm inicjujący niewydolność nerek w przebiegu FSGS. W dostępnej literaturze do tej pory nie opublikowano doniesień na temat ekspresji PARP-1 i IDO-1 w bioptatach nerek u pacjentów z FSGS.

W moich badaniach nie stwierdzono różnic pomiędzy nasileniem immunoreaktywności PARP-1 i IDO-1, a cechami morfologicznymi kłębuszków nerkowych, włóknieniem miąższu, zanikiem cewek oraz nasileniem zapalenia cewkowo-śródmiąższowego w obrębie śródmiąższu. Pacjenci z wtórnym i pierwotnym FSGS nie różnili się między sobą pod względem nasilenia ekspresji PARP-1 i IDO-1. Podobnie nie stwierdzono zależności z nasileniem białkomoczu oraz funkcją filtracyjną nerek w okresie biopsji. Spośród badanych biomarkerów wykazano, że obecność ekspresji PARP-1 w śródmiąższowym nacieku zapalnym ponad dwukrotnie zwiększała ryzyko niewydolności nerek ($p=0,006$), a obecność ekspresji drugiego z biomarkerów tj. IDO-1 w śródmiąższowym nacieku zapalnym podnosiła prawie 3-krotnie to ryzyko ($p=0,006$).

5.2.1 PARP-1

Nadmierna aktywacja PARP-1 spowodowana przez uszkodzenie DNA związanego z stresem oksydacyjnym jest obserwowana w wielu procesach patologicznych i powoduje nasilenie kluczowych procesów prozapalnych i powodujących śmierć komórek (np. NF- κ B). Zastosowanie inhibitorów PARP-1 w modelach przedklinicznych powodowało zmniejszenie uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego [43]. Przy umiarkowanym uszkodzeniu DNA aktywacja PARP-1 powoduje jego rozszczepienie przez kaspazy na 2 fragmenty, co może indukować proces apoptozy. W przypadku nasilonego uszkodzenia DNA nadmierna aktywacja PARP-1 prowadzi do programowanej śmierci komórki [135,136]. Ponadto PARP-1 jest enzymem zużywającym dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NAD). W ten sposób wywierając złożony wpływ na metabolizm komórkowy ekspresję genów i reakcję na stres [137]. Podwójna rola PARP-1 w metabolizmie komórkowym, a także w reakcji zapalnej powodowała zainteresowanie PARP-1 jako potencjalnym celem terapeutycznym.

Uszkodzenie niedokrwienno-reperfuzyjne jest związane z pogorszeniem czynności nerki przeszczepionej. Niedokrwienie powoduje aktywację PARP-1 a tym samym niedobór wewnątrzkomórkowego NAD⁺, który wyrównać można tylko w reakcji, która zużywa ATP. Prowadzi to do śmierci komórek z uwagi na niedobór ATP. Wykazano, że wyższa ekspresja PARP-1 u dawców nerek w podeszłym wieku wiązała się z gorszą czynnością nerek po 3 miesiącach [137]. Ekspresja PARP-1 w cewkach nerkowych u biorców z opóźnioną czynnością nerki była wyższa niż u biorców z natychmiastową czynnością, co wskazuje na kluczową rolę PARP-1 w ostrym uszkodzeniu cewek (ATN) przeszczepionej nerki.

W przewlekłych zaburzeniach czynności nerek u dzieci podwyższone poziomy niktynoamidów w osoczu, hamujących PARP-1 opisali polscy autorzy, którzy wysunęli hipotezę, że metabolity niktynoamidu krótkotrwale mogą działać protekcyjnie, natomiast długoterminowo upośledzają mechanizmy naprawy DNA [49]. Opisywano, że malejące stężenie NAD⁺, wpływając na aktywność sirtuin jest związane ze starzeniem się oraz przewlekłym uszkodzeniem narządów w tym z przewlekłą chorobą nerek. Dlatego działania prowadzące do zwiększenia poziomu NAD⁺ w komórkach można wykorzystać w celach terapeutycznych [49]. Inaktywacja SIRT-1 w podocytach uszkadzała barierę kłębuszkową prowadząc do białkomoczu [49]. Aby zapobiec temu procesowi poprzez zablokowanie aktywności PARP-1 prowadzi do zwiększenia NAD⁺, a tym samym zapobiegnie niedoborowi sirtuin. Potencjalnie może to spowodować działanie nefroprotekcyjne. Na modelu mysim z FSGS wywołanym adriamycyną wykazano, że zahamowanie aktywności PARP-1

zmniejszało uszkodzenie nerek poprzez zwiększenia stężenia NAD⁺ i spowodowaną tym zmianą ekspresji sirtuin [36].

Wykazano na modelach zwierzęcych, że PARP-1 jest aktywowany w czasie kłębuszkowego zapalenia nerek, szczególnie u mężczyzn, a leczenie pochodnymi estradiolu zmniejszało jego ekspresję i poprawiało wyniki leczenia [51]. W badaniach grupy NEPTUNE wykazano związek pomiędzy ekspresją ACE2, a nasileniem włóknienia śródmiąższowego i zanikiem cewek tylko u mężczyzn [138]. Zastosowanie rekombinowanego ACE2 ograniczało włóknienie w eksperymentalnych modelach zespołu Alporta i FSGS [138]. Ochronny wpływ estradiolu może być częściowo odpowiedzialny za rzadsze występowanie FSGS i zespołu Alporta u kobiet. Również w naszej populacji podobnie jak w badaniach innych autorów, mężczyźni stanowili 2/3 badanych.

Prawdopodobnie PARP-1, jako kofaktor NF- κ B, może być związany z indukcją TNF- α , który odgrywa istotną rolę w rozwoju kłębuszkowych zapaleń nerek. Aktywacja szlaków TNF- α zachodzi w podocytach u pacjentów z FSGS, co sugeruje udział tego szlaku w aktywacji odpowiedzi na potencjalny czynnik krążący [138]. Wykazano, że stężenia TNF- α były wyższe u pacjentów z FSGS i MCD niż w innych typach glomerulopatii oraz u zdrowych kontroli [139].

Wykazano wyższą ekspresję PARP-1 w tkance nerkowej w odpowiedzi na uszkodzenie niedokrwienno-reperfuzyjne i toksyczne [43,46]. Jednocześnie inni autorzy obserwowali, iż stężenie PARP-1 w surowicy było wyższe u biorców przeszczepu nerki ze stabilną czynnością nerki przeszczepionej, niż u biorców z ostrym odrzucaniem [140]. Wydaje się, że dokładne wyjaśnienie dylematu sprzecznych danych na temat ekspresji PARP-1 w tkankach i we krwi może mieć kluczowe znaczenie dla określenia szkodliwej lub ochronnej roli tego biomarkera. W naszej pracy wykazano, że stwierdzenie ekspresji PARP-1 w barwieniu immunohistochemicznym w śródmiąższowym nacieku zapalnym, 2-krotnie zwiększało ryzyko niekorzystnego przebiegu FSGS z rozwojem niewydolności nerek. W naszych badaniach nie oceniano stężenia PARP-1 we krwi pacjentów.

5.2.2 IDO-1

2,3-dioxygenaza indolaminy (IDO-1) jest enzymem katabolizującym w początkowych fazach kinureninowego szlaku tryptofanu, który prowadząc do zmniejszenia jego stężenia, hamuje podziały limfocytów. Jednocześnie poprzez kinureniny i ich pochodne indukuje apoptozę limfocytów T i hamuje ich różnicowanie [52,53]. Ekspresja IDO-1 jest indukowana

przez interferon γ , reakcję zapalną oraz infekcje. Wynikające z tego obniżenie lokalnych poziomów tryptofanu, jak i różnych toksycznych metabolitów na szlaku przemian kinureniny, bierze udział w immunoregulacyjnych właściwościachIDO-1 [141].

Wykazano zwiększoną ekspresjęIDO-1 w naciekających makrofagach w kłębuszkach i komórkach nabłonka cewek nerkowych w eksperymentalnych modelach kłębuszkowych zapaleniach nerek [142].

W modelach kłębuszkowych zapaleń nerek związanych z aktywacją limfocytów Th1 (anty-GBM) obserwowano, że metabolity tryptofanu hamują proliferację limfocytów T oraz zmniejszają aktywnośćIDO-1. Ponadto zmniejszały one histopatologiczne cechy uszkodzenia kłębuszków, intensywność nacieków zapalnych złożonych z limfocytów T i makrofagów w kłębuszkach, co prowadziło do zmniejszenia białkomoczu [66]. W modelach nefropatii IgA podanie komórek dendrytycznych z nadekspresjąIDO-1 powodowało aktywację limfocytów T-regulatorowych, a w konsekwencji zmniejszenie stanu zapalnego, odkładania IgA w mezangium i zmniejszenie białkomoczu [62,63]. Pan i wsp. wykazali na modelu zwierzęcym uszkodzenia niedokrwiennie-reperfuzyjnego, że podanie inhibitorówIDO-1 zmniejszało włóknienie w nerkach [56]. Dodatkowo supresjaIDO-1 sprzyjała polaryzacji makrofagów z M1 do M2, prowadząc do zmniejszenia reakcji zapalnej [58]. Na modelu zwierzęcym wykazano, że podanie nanocząsteczek DNA indukujących ekspresjęIDO-1 zmniejszały intensywność reakcji odrzuceniowej alloprzeszczepu u świń [143].

W literaturze dostępne są pojedyncze doniesienia opisujące rolęIDO-1 w chorobach nerek u ludzi. Wykazano, że kinureninowy szlak metabolizmu tryptofanu bierze udział w patofizjologii przewlekłej choroby nerek (PChN), głównie poprzez indukowaną stanem zapalnym aktywność 2,3-dioksygenazy indolaminy (IDO-1) [144,145]. Czynniki aktywujące reakcję zapalną zwiększają syntezę kinureniny. Obserwowano, że progresja niewydolności nerek u pacjentów z cukrzycową chorobą nerek związana była ze zmniejszonymi poziomami tryptofanu i akumulacją kinureiny [58]. Inni autorzy wykazali, że aktywnośćIDO-1 oraz stężenia metabolitów tryptofanu ze szlaków kinureiny wzrastała wraz z postępem niewydolności nerek [146]. Zastosowanie ACEI wpływało na zmniejszenie poziomów metabolitów tryptofanu u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek [147].

W dostępnej literaturze brak jest obserwacji dotyczących roliIDO-1 w FSGS. W naszej pracy nie stwierdzono różnicy pomiędzy nasileniem ekspresjiIDO-1, a cechami morfologicznymi poszczególnych kompartmentów biopłatów nerek. Jednakże wykazano, że ekspresjaIDO-1 w śródmiąższowym nacieku zapalnym podnosiła prawie 3-krotnie ryzyko

osiągnięcia schyłkowej niewydolności nerek w czasie obserwacji. Jest to jedyne jak do tej pory doniesienie o roliIDO-1 w FSGS.

5.3 Ograniczenia badania

Wykonany projekt, jako badanie retrospektywne, miał liczne ograniczenia. Nie były dostępne wyniki oceny bioptatów nerek w mikroskopii elektronowej, ponieważ w czasie wykonywania biopsji ten rodzaj badania był wykonywany bardzo rzadko, tylko w przypadku wątpliwości diagnostycznych. Projekt był badaniem jednośrodkowym, w związku z czym liczba dostępnych bioptatów nerek była ograniczona, a więc do badania włączono pacjentów, dla których była to pierwsza lub kolejna biopsja, co spowodowało brak homogenności grupy. Z uwagi na niejednorodność zastosowanej terapii nie można było wyciągnąć wniosków dotyczących jej skuteczności. W szczególności niektórzy pacjenci byli leczeni immunosupresyjnie przed wykonaniem badanych biopsji, co mogło wpłynąć na ocenę badanych biomarkerów w tkance nerkowej.

6 Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych w materiale własnym badań sformułowano następujące wnioski:

1. IDO-1 i PARP-1 biorą udział w procesach prowadzących do progresji do schyłkowej niewydolności nerek u pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS.
2. Ekspresja tkankowa IDO-1 i PARP-1 nie jest przydatna w różnicowaniu pierwotnego i wtórnego FSGS.
3. Zarówno ekspresja IDO-1, jak i PARP-1, oraz poszczególne parametry oceny histopatologicznej bioptatu nerek nie mają związku z nasileniem białkomoczu w okresie biopsji.
4. Stężenie kreatyniny w surowicy krwi w czasie biopsji, nasilenie białkomoczu, odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją powyżej 50%, nasilone włóknienia śródmiąższu i zanik cewek nerkowych, występowanie śródmiąższowego nacieku zapalnego, wtórny typ FSGS oraz ekspresja PARP-1 i IDO-1 w nacieku zapalnym w śródmiąższu mają istotny wpływ na wystąpienie schyłkowej niewydolności w długotrwałej obserwacji.
5. Upośledzona czynność nerek w czasie biopsji jest związana z wyższym odsetkiem kłębuszków ze sklerotyzacją, odsetkiem powierzchni śródmiąższu objętej włóknieniem i zanikiem cewek nerkowych oraz obecnością zapalenia cewkowo-śródmiąższowego (TIN) i arteriolosklerozy.

7 Streszczenie

Wstęp

Ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków (FSGS, ang. *focal segmental glomerulosclerosis*) jest zaliczane do podocytopatii, charakteryzujących się ogniskową i segmentalną sklerotyzacją pętli włosniczkowych kłębuszków nerkowych. W zależności od typu przebieg kliniczny FSGS objawia się białkomoczem o różnym nasileniu, aż do zespołu nerczycowego z nasilonymi obrzękami i hipoalbuminemią, w połowie przypadków z krwinkomoczem, niekiedy z towarzyszącym nadciśnieniem tętniczym lub upośledzeniem funkcji filtracyjnej nerek. Obecny podział poszczególnych typów FSGS według *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* z 2021 roku wyróżnia FSGS pierwotny, wtórny, uwarunkowany genetycznie oraz o nieustalonej etiologii.

Wtórny FSGS rozpoznawany jest częściej niż pierwotny, a jego przyczyną są zmiany adaptacyjne związane z hiperfiltracją kłębuszków nerkowych lub uszkodzenia podocytów wywołane przez toksyczność leków, zespół hemofagocytowy lub zakażenia wirusowe. We wtórnych typach FSGS zwykle nie stwierdza się zespołu nerczycowego.

Dotychczas nie ustalono etiologii pierwotnego FSGS. Przypuszcza się, że za powstanie choroby odpowiadają rozpuszczalne, niezidentyfikowane czynniki, które prowadzą do uszkodzenia podocytów z zatarciem wyrostków stopowatych podocytów i białkomoczem. Wiadomo, że antygeny zlokalizowane na podocytach mogą odgrywać kluczową rolę w inicjacji i progresji zmian obserwowanych w FSGS.

Lepsze zrozumienie patogenezы FSGS oraz roli różnych cząsteczek w patologii uszkodzenia podocytów może prowadzić do wdrożenia terapii ukierunkowanej na etiologię.

Cele

Celem przeprowadzonego retrospektywnego badania było określenie czynników klinicznych i parametrów histopatologicznych prognozujących przebieg kliniczny pierwotnego i wtórnego FSGS. W szczególności celem było określenie znaczenia ekspresji tkankowej polimerazy poli(ADP-rybozy) 1 (PARP-1) oraz 2,3-dioksygenazy indolaminy (IDO-1) dla prognozowania progresji niewydolności nerek oraz różnicowania pomiędzy pierwotnym a wtórnym FSGS. Ponadto przeanalizowano zależności pomiędzy ekspresją tkankową PARP-1 i IDO-1 oraz parametrami oceny histopatologicznej bioptatu nerek a nasileniem białkomoczu oraz czynnością nerek w okresie biopsji.

Materialy i metody

Do badania zostali włączeni pacjenci pozostający pod opieką Kliniki Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu z potwierdzonym histopatologicznie uszkodzeniem kłębuszków o typie pierwotnego lub wtórnego FSGS (52 pacjentów). Badanie immunohistochemiczne celem oceny ekspresji PARP-1 i IDO-1 zostało wykonane z archiwalnych bloczków parafinowych zawierających materiał tkankowy pochodzący z diagnostycznych przeskornych gruboigłowych biopsji nerek. Wyniki oceny ekspresji PARP-1 i IDO-1 oraz parametry histopatologiczne bioptatów nerek zostały przeanalizowane w odniesieniu do danych demograficznych oraz klinicznych, w tym wykładników postępu przewlekłej choroby nerek w przebiegu FSGS.

Wyniki

Grupy z pierwotnym i wtórnym FSGS różniły się istotnie statystycznie pod względem stężeń następujących parametrów w surowicy krwi: albumin (3,1 [2,6–3,4] vs 3,9 [3,4–4,2] g/dl, $p < 0,001$), białka całkowitego (5,5 [4,6–6,0] vs 6,4 [6,08–7,13] g/dl, $p < 0,001$), cholesterolu całkowitego (289 [244–402] vs 215 [203–252] mg/dl, $p = 0,002$), a także pod względem białkomoczu dobowego (UPCR, 3,06 [1,23–4,34] vs 1,4 [0,38–2,02], $p = 0,008$). Średnie stężenie kreatyniny u pacjentów wynosiło 1,79 mg/dl. Stwierdzono istotną różnicę między grupą pacjentów z upośledzeniem czynności nerek w okresie okołobiopsyjnym, a grupą z prawidłową czynnością nerek w odniesieniu do odsetka niezmiennych kłębuszków, który był istotnie wyższy w grupie z prawidłową czynnością nerek (mediana 36 [27–51%] vs 17 [0–28%], $p < 0,001$). Równocześnie obserwowano istotnie mniejszy odsetek kłębuszków z całkowitą sklerotyzacją w bioptatach od pacjentów z prawidłową czynnością nerek (mediana 10 [0–18] vs 25 [13–46], $p < 0,001$). Pacjenci z upośledzoną czynnością nerek mieli istotnie wyższy odsetek powierzchni objętej włóknieniem w obrębie śródmiaższu (mediana 20 [15–20] vs 5 [0–10], $p < 0,001$) i zanikiem cewek (mediana 18 [0–20] vs 0 [0–8,5], $p = 0,001$) oraz obecnością arteriolosklerozy (26 pacjentów, 83,9% vs 9 pacjentów, 42,9%, $p = 0,002$).

Czynność nerek w okresie okołobiopsyjnym, była zmienną determinującą przeżycie nerek (HR 11,8, 95% CI 4,3–32,7, $p < 0,001$). Zaobserwowano również niekorzystny wpływ rozpoznania wtórnego FSGS (HR 3,4, 95% CI 1,0–10,9, $p = 0,042$) oraz białkomoczu dobowego (UPCR, HR 1,6, 95% CI 1,2–2,0, $p < 0,001$).

Wykazano, że odsetek sklerotyzacji kłębuszków $> 50\%$ istotnie podnosi ryzyko wystąpienia niewydolności nerek.

Nie stwierdzono istotnych różnic pod względem intensywności ekspresji PARP-1 i IDO-1 w poszczególnych kompartmentach biopłatów nerek w grupach z pierwotnym i wtórnym FSGS. Nie stwierdzono różnicy pomiędzy nasileniem intensywności reakcji immunohistochemicznej dla PARP-1 i IDO-1 a cechami morfologicznymi kłębuszków nerkowych, włóknieniem miąższu, zanikiem cewek oraz nasileniem zapaleniem cewkowo-śródmiaższowym o charakterze przewlekłym w obrębie śródmiaższu.

W analizie jednoczynnikowej wykazano potencjalny związek z przeżyciem nerek w przypadku następujących parametrów histopatologicznych:

- TIN – HR 4,0 (95% CI 2,1–7,6), $p < 0,001$;
- % włóknienia – HR 2,1 (95% CI 1,4–3,2) / każde 10%, $p < 0,001$;
- % zaniku cewek – HR 1,6 (95% CI 1,2–2,1) / każde 10%, $p = 0,002$;
- odsetek nasilonej sklerotyzacji kłębuszków (50–100%) – HR 1,54 (95% CI 1,1–2,2) / każde 20% , $p = 0,022$;
- odsetek kłębuszków niezmiennych – HR 0,44 (95% CI 0,2–0,9) / każde 20%, $p = 0,025$;
- a także w ekspresji PARP-1 (HR 2,2, 95% CI 1,2–4,4, $p = 0,006$) oraz IDO-1 (HR 3,2, 95% CI 1,4–7,4, $p = 0,006$) w śródmiaższowym nacieku zapalnym.

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych w materiale własnym badań sformułowano następujące wnioski:

1. IDO-1 i PARP-1 biorą udział w procesach prowadzących do progresji do schyłkowej niewydolności nerek u pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS.
2. Ekspresja tkankowa IDO-1 i PARP-1 nie jest przydatna w różnicowaniu pierwotnego i wtórnego FSGS.
3. Zarówno ekspresja IDO-1, jak i PARP-1, oraz poszczególne parametry oceny histopatologicznej biopłatu nerek nie mają związku z nasileniem białkomoczu w okresie biopsji.
4. Stężenie kreatyniny w surowicy krwi w czasie biopsji, nasilenie białkomoczu, odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją powyżej 50%, nasilone włóknienia śródmiaższu i zanik cewek nerkowych, występowanie śródmiaższowego nacieku zapalnego, wtórny typ FSGS oraz ekspresja PARP-1 i IDO-1 w nacieku zapalnym

w śródmiąszu mają istotny wpływ na wystąpienie schyłkowej niewydolności w długotrwałej obserwacji.

5. Upośledzona czynność nerek w czasie biopsji jest związana z wyższym odsetkiem kłębuszków ze sklerotyzacją, odsetkiem powierzchni śródmiąszu objętej włóknieniem i zanikiem cewek nerkowych oraz obecnością zapalenia cewkowo-śródmiąszowego (TIN) i arteriolosklerozy.

8 Summary

Introduction

Focal and segmental glomerulosclerosis is a podocytopathy, which is characterized by focal and segmental sclerosis of the glomerular capillary loops. Depending on the FSGS type, its clinical course is manifested with proteinuria of various intensity, including nephrotic syndrome with severe swelling and hypoalbuminemia. Erythrocyturia is also present in 50% of cases. Accompanying hypertension or impaired glomerular filtration are also sometimes observed. According to the Kidney Disease: Improving Global Outcomes 2021 nomenclature, FSGS has been classified into primary, genetic, secondary and for-undetermined-cause forms.

Secondary FSGS is more often recognized than the primary one, and its causes include adaptation changes related to hyperfiltration of glomeruli or podocyte injury, which result from drug toxicity, hemophagocytic syndrome or viral infections. Secondary FSGS is rarely manifested with nephrotic syndrome.

The cause underlying the primary form of FSGS has not been defined yet. It is assumed that the disease is caused by unidentified soluble factors, which lead to podocyte injury with obliteration of foot processes and proteinuria. It is known that podocyte related antigens may play crucial role in initiation and progression of injury.

Better understanding of FSGS pathogenesis and the pathological roles of various molecules in podocyte injury may lead to implementation of a etiology-focused therapy.

Aims

The goal of the project was to determine clinical factors and histopathological parameters that are prognostic for clinical course of primary and secondary FSGS. In particular, the aim was to assess the significance of kidney tissue expression of poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1) and indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO-1) for prediction of long-term renal function in FSGS patients and differentiation between primary and secondary type of the disease. Moreover, the associations between the above molecules' tissue expression or histopathological parameters and proteinuria degree or renal function at the time of the biopsy were studied.

Material and methods

The study included the patients of the Department of Nephrology and Transplantation Medicine of Wroclaw University Hospital, who had a kidney biopsy with a result suggesting FSGS of primary or secondary cause (52 patients). The immunohistochemical assessment of

PARP-1 and IDO-1 expression was performed on sections from archival paraffin blocks containing tissue material from diagnostic percutaneous core needle biopsies of the kidneys. The results of PARP-1 and IDO-1 expression together with histopathological parameters were related to demographic and clinical data, including the measures of progression of chronic kidney disease in the course of FSGS.

Results

The primary and secondary FSGS groups differed statistically significantly in terms of serum concentrations of the following parameters: albumin (3.1 [2.6–3.4] vs 3.9 [3.4–4.2] g/dl, $p < 0.001$), total protein (5.5 [4.6–6.0] vs 6.4 [6.08–7.13] g/dl, $p < 0.001$), total cholesterol (289 [244–402] vs 215 [203–252] mg/dl, $p = 0.002$), and 24-hour proteinuria (UPCR, 3.06 [1.23–4.34] vs 1.4 [0.38–2.02], $p = 0.008$). The patients' mean creatinine was 1,79 mg/dL. There was a significant difference between the group of patients with renal impairment at the time of biopsy period and the group with normal renal function in the percentage of unchanged glomeruli, which was significantly higher in the group with normal renal function (median 36 [27–51%] vs 17 [0–28%], $p < 0.001$). At the same time, a significantly lower percentage of glomeruli with complete sclerosis in biopsies from patients with normal renal function was observed (median 10 [0–18] vs 25 [13–46], $p < 0.001$). Patients with impaired renal function had a significantly higher percentage of interstitial fibrosis (median 20 [15–20] vs 5 [0–10], $p < 0.001$) as well as tubular atrophy (median 18 [0–20] vs 0 [0–8.5], $p = 0.001$) and arteriolosclerosis (26 patients, 83,9% vs 9 patients, 42,9%, $p = 0,002$).

Renal function at the time of biopsy period was the determinant of renal survival (HR 11.8, 95% CI 4.3–32.7, $p < 0.001$). There was also an adverse effect of diagnosis of secondary FSGS (HR 3.4, 95% CI 1.0-10.9, $p = 0.042$) and 24-hour proteinuria (UPCR, HR 1.6, 95% CI 1.2-2.0, $p < 0.001$).

It has been shown that the percentage of glomerular sclerosis $> 50\%$ significantly increases the risk of renal failure.

There were no significant differences in the intensity of PARP-1 and IDO-1 expression in particular compartments of renal biopsies in groups with primary and secondary FSGS. There was no difference between the intensity of the immunohistochemical reaction for PARP-1 and IDO-1 and the morphological features of the glomeruli, interstitial fibrosis, tubular atrophy and the severity of chronic tubulointerstitial inflammation.

Univariate analysis showed a potential association with renal survival for the following histopathological parameters:

- TIN – HR 4.0 (95% CI 2.1–7.6), $p < 0.001$;
- % fibrosis – HR 2.1 (95% CI 1.4–3.2) / every 10%, $p < 0.001$;
- % tubular atrophy – HR 1.6 (95% CI 1.2–2.1) / every 10%, $p = 0.002$;
- percentage of increased glomerular sclerosis (50–100%) – HR 1.54 (95% CI 1.1–2.2) / every 20%, $p = 0.022$;
- proportion of unchanged glomeruli – HR 0.44 (95% CI 0.2–0.9) / each 20%, $p = 0.025$;
- and the expression of PARP-1 (HR 2.2, 95% CI 1.2–4.4, $p = 0.006$) and IDO-1 (HR 3.2, 95% CI 1.4–7.4, $p = 0.006$) in interstitial inflammatory infiltration.

Conclusions

Based on the research conducted in the own material, the following conclusions were formulated:

1. IDO-1 and PARP-1 are involved in the processes leading to progression to end-stage renal disease in patients with primary and secondary FSGS.
2. Tissue expression of IDO-1 and PARP-1 is not useful in differentiating between primary and secondary FSGS.
3. Both the expression of IDO-1 and PARP-1 as well as individual histopathological parameters of the kidney biopsy are not related to the severity of proteinuria during the time of biopsy.
4. Serum creatinine concentration at the time of biopsy, increased proteinuria, percentage of glomeruli with sclerosis above 50%, severe interstitial fibrosis and tubular atrophy, presence of interstitial inflammatory infiltrates, secondary type of FSGS, and expression of PARP-1 and IDO-1 in the interstitial inflammatory infiltrates have a significant impact on the occurrence of end-stage disease in long-term follow-up.
5. Impaired renal function at the time of biopsy is associated with a higher percentage of sclerotic glomeruli, percentage of interstitial area and tubular atrophy, and the presence of tubulointerstitial inflammation (TIN) and arteriolosclerosis.

9 Spis tabel

1. **Tabela 1-1.** Klasyfikacja FSGS według KDIGO 2021.
2. **Tabela 1-2.** Proponowane krążące czynniki przesączalne w patogenezie FSGS.
3. **Tabela 1-3.** Potencjalne biomarkery postępu FSGS.
4. **Tabela 4-1.** Parametry laboratoryjne w okresie okołobiopsyjnym dla całej grupy włączonej do badania.
5. **Tabela 4-2.** Porównanie wyników badań laboratoryjnych (okres okołobiopsyjny) w grupach pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS
6. **Tabela 4-3.** Porównanie parametrów systemowej odpowiedzi zapalnej w obu grupach pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS.
7. **Tabela 4-4.** Parametry biopsyjne dla całej grupy włączonej do badania – ocena kłębuszków.
8. **Tabela 4-5.** Częstość występowania poszczególnych stopni przewlekłych zmian zapalnych cewkowo- śródmiąższowych (TIN).
9. **Tabela 4-6.** Wybrane parametry oceny histopatologicznej bioptatu nerki w grupach pacjentów w zależności od obecności TIN.
10. **Tabela 4-7.** Wybrane parametry oceny histopatologicznej bioptatu nerki w grupach pacjentów w zależności od obecności zmian naczyniowych o charakterze arteriolosklerozy.
11. **Tabela 4-8.** Porównanie parametrów oceny histopatologicznej bioptatów pobranych od pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS
12. **Tabela 4-9.** Porównanie występowania i nasilenia TIN u pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS.
13. **Tabela 4-10.** Porównanie występowania i nasilenia arteriolosklerozy u pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS.
14. **Tabela 4-11.** Zależność między zaawansowaniem zmian histopatologicznych w bioptacie nerek a czynnością filtracyjną nerek (kłębuszki)
15. **Tabela 4-12.** Porównanie występowania i nasilenia arteriolosklerozy u pacjentów z prawidłową i obniżoną funkcją nerek.
16. **Tabela 4-13.** Zależność między zaawansowaniem zmian histopatologicznych w bioptacie nerek a czynnością filtracyjną nerek (śródmiąższ)
17. **Tabela 4-14.** Nasilenie TIN w grupie pacjentów z upośledzoną i prawidłową funkcją filtracyjną nerek w czasie biopsji
18. **Tabela 4-15.** Zależność między zaawansowaniem zmian histopatologicznych w kłębuszkach a obecnością i nasileniem białkomoczu.
19. **Tabela 4-16.** Zależność między zaawansowaniem zmian histopatologicznych w śródmiąższu nerek a białkomoczem.
20. **Tabela 4-17.** Nasilenie arteriolosklerozy w zależności od stopnia białkomoczu w okresie okołobiopsyjnym
21. **Tabela 4-18.** Nasilenie TIN w grupach pacjentów z różnym nasileniem białkomoczu w okresie okołobiopsyjnym

22. **Tabela 4-19.** Obserwowany poziom ekspresji PARP-1 w biopsjach nerek u chorych z FSGS.
23. **Tabela 4-20.** Ekspresja PARP-1 stwierdzona w biopsjach nerek w grupach pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS.
24. **Tabela 4-21.** Rozkład obserwowanej sklerotyzacji i proliferacji mezangium w zależności od intensywności reakcji immunohistochemicznej w kierunku PARP-1 w kłębuszkach. Opis parametrów histopatologicznych przedstawiono jako mediana [IQR].
25. **Tabela 4-22.** Rozkład intensywności reakcji immunohistochemicznej dla PARP-1 w zależności od nasilenia arteriolosklerozy
26. **Tabela 4-23.** Obserwowany stopień włóknienia i zaniku cewek w zależności od intensywności reakcji immunohistochemicznej dla PARP-1 w nabłonku cewek.
27. **Tabela 4-24.** Rozkład intensywności reakcji immunohistochemicznej w kierunku PARP-1 w śródmiąższowym nacieku zapalnym w zależności od obecności i nasilenia TIN
28. **Tabela 4-25.** Obserwowany poziom ekspresji IDO-1 w biopsjach nerek u chorych z FSGS.
29. **Tabela 4-26.** Ekspresja IDO-1 stwierdzona w biopsjach nerek w grupach pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS.
30. **Tabela 4-27.** Rozkład obserwowanej sklerotyzacji i proliferacji mezangium w zależności od intensywności reakcji immunohistochemicznej w kierunku PARP-1 w kłębuszkach. Opis parametrów histopatologicznych przedstawiono jako mediana [IQR].
31. **Tabela 4-28.** Ekspresja IDO-1 w kłębuszkach w zależności od nasilenia arteriolosklerozy ($p=0,820$).
32. **Tabela 4-29.** Ekspresja IDO-1 w śródmiąższowym nacieku zapalnym w zależności od obecności i nasilenia TIN
33. **Tabela 4-30.** Rozkład intensywności reakcji immunohistochemicznej PARP-1 w stosunku do czynności filtracyjnej nerek w czasie biopsji
34. **Tabela 4-31.** Rozkład intensywności reakcji immunohistochemicznej PARP-1 w zależności od białkomoczu w okresie okołobiopsyjnym.
35. **Tabela 4-32.** Ekspresja IDO-1 w zależności do czynności filtracyjnej nerek w okresie okołobiopsyjnym
36. **Tabela 4-33.** Ekspresja IDO-1 w zależności od białkomoczu w okresie okołobiopsyjnym.
37. **Tabela 4-34.** Wyniki badań laboratoryjnych u pacjentów z zachowaną funkcją nerek po roku od biopsji oraz ich odniesienie do wyników z okresu okołobiopsyjnego.
38. **Tabela 4-35.** Wyniki regresji proporcjonalnego hazardu Cox'a – analiza wpływu parametrów laboratoryjnych oraz typu FSGS na obserwowane przeżycie nerek.
39. **Tabela 4-36.** Wyniki regresji proporcjonalnego hazardu Cox'a – analiza wpływu parametrów laboratoryjnych na obserwowane przeżycie nerek w zależności od typu FSGS.

10 Spis rycin

1. **Rycina 1-1.** Struktura molekularna kompleksu PARP-1 z uszkodzoną nicią DNA.
2. **Rycina 1-2.** Struktura molekularna 2,3-dioksygenazy indolaminy (IDO-1) z hemowym ligandem (holoenzym).
3. **Rycina 4-1.** Leczenie stosowane w zależności od rozpoznanego typu FSGS w okresie roku od analizowanej biopsji nerki. Na wykresie przedstawiono odsetek pacjentów z pierwotnym (niebieski) lub wtórnym (czerwony) FSGS, u których stosowano dany lek.
4. **Rycina 4-2.** Macierz korelacji parametrów oceny histopatologicznej bioptatów nerki.
5. **Rycina 4-3.** Wysoka immunoreaktywność PARP-1 w komórkach śródmiąższowego nacieku zapalnego. Ogniskowa ekspresja PARP-1 w komórkach nabłonka cewkowego. Powiększenie 200x.
6. **Rycina 4-4.** Wysoka immunoreaktywność PARP-1 w komórkach nabłonka cewkowego. Ogniskowa ekspresja PARP-1 w komórkach śródmiąższowego nacieku zapalnego. Powiększenie 200x.
7. **Rycina 4-5.** Wysoka ekspresja PARP-1 w komórkach nabłonka cewkowego. Powiększenie 200x.
8. **Rycina 4-6.** Ekspresja PARP-1 w obrębie kłębuszka. Ogniskowa immunoreaktywność PARP-1 w obrębie nabłonka cewkowego. Powiększenie 200x.
9. **Rycina 4-7.** Obecność i nasilenie TIN obserwowane w bioptatach w zależności od poziomu ekspresji PARP-1.
10. **Rycina 4-8.** Wysoka ekspresja IDO-1 w komórkach śródmiąższowego nacieku zapalnego z punktową immunoreaktywnością w komórkach nabłonka cewkowego. Powiększenie 200x.
11. **Rycina 4-9.** Wysoka immunoreaktywność IDO-1 w obrębie pojedynczego kłębuszka. Powiększenie 200x.
12. **Rycina 4-10.** Punktowa immunoreaktywność w komórkach śródmiąższowego nacieku zapalnego. Powiększenie 200x.
13. **Rycina 4-11.** Pojedyncze dodatnie komórki śródmiąższowego nacieku zapalnego. Powiększenie 200x.
14. **Rycina 4-12.** Obecność i nasilenie TIN obserwowane w bioptatach w zależności od poziomu ekspresji IDO-1.
15. **Rycina 4-13.** Korelacja pomiędzy ekspresją badanych markerów w śródmiąższowym nacieku zapalnym ($p=0,002$)
16. **Rycina 4-14.** Porównanie prawdopodobieństwa zachowania czynności nerek w zależności od typu FSGS ($p=0,008$); linia niebieska – FSGS pierwotny, linia zielona – FSGS wtórny
17. **Rycina 4-15.** Korelacje pomiędzy podstawowymi parametrami laboratoryjnymi w okresie okołobiopsyjnym

11 Piśmiennictwo

1. Trachtman, H.; Laskowski, J.; Lee, C.; Renner, B.; Feemster, A.; Parikh, S.; Panzer, S.E.; Zhong, W.; Cravedi, P.; Cantarelli, C.; i in. Natural antibody and complement activation characterize patients with idiopathic nephrotic syndrome. *Am. J. Physiol. - Ren. Physiol.* **2021**, *321*, F505–F516, doi:10.1152/ajprenal.00041.2021.
2. Fogo, A.B. Causes and pathogenesis of focal segmental glomerulosclerosis. *Nat. Rev. Nephrol.* **2015**, *11*, 76–87, doi:10.1038/nrneph.2014.216.
3. Perkowska-Ptasinska, A.; Bartczak, A.; Wagrowska-Danilewicz, M.; Halon, A.; Okon, K.; Wozniak, A.; Danilewicz, M.; Karkoszka, H.; Marszałek, A.; Kowalewska, J.; i in. Clinicopathologic correlations of renal pathology in the adult population of Poland. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2017**, *32*, ii209–ii218, doi:10.1093/ndt/gfw365.
4. Schena, F.P. Survey of the Italian Registry of Renal Biopsies. Frequency of the renal diseases for 7 consecutive years. *Nephrol. Dial. Transplant.* **1997**, *12*, 418–426, doi:10.1093/ndt/12.3.418.
5. Rivera, F.; López-Gómez, J.M.; Pérez-García, R. Clinicopathologic correlations of renal pathology in Spain. *Kidney Int.* **2004**, *66*, 898–904, doi:10.1111/j.1523-1755.2004.00833.x.
6. Maixnerova, D.; Jancova, E.; Skibova, J.; Rysava, R.; Rychlik, I.; Viklicky, O.; Merta, M.; Kolsky, A.; Reiterova, J.; Neprasova, M.; i in. Nationwide biopsy survey of renal diseases in the Czech Republic during the years 1994–2011. *J. Nephrol.* **2015**, *28*, 39–49, doi:10.1007/s40620-014-0090-z.
7. Shabaka, A.; Ribera, A.T.; Fernández-Juárez, G. Focal Segmental Glomerulosclerosis: State-of-the-Art and Clinical Perspective. *Nephron* **2020**, *144*, 413–427, doi:10.1159/000508099.
8. KDIGO – KIDNEY DISEASE | IMPROVING GLOBAL OUTCOMES Dostępne na: <https://kdigo.org/> (udostępniono kwi 12, 2022).
9. De Vriese, A.S.; Sethi, S.; Nath, K.A.; Glassock, R.J.; Fervenza, F.C. Differentiating primary, genetic, and secondary FSGS in adults: A clinicopathologic approach. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2018**, *29*, 759–774, doi:10.1681/ASN.2017090958.
10. Bose, B.; Cattran, D. Glomerular diseases: FSGS. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **2014**, *9*, 626–632, doi:10.2215/CJN.05810513.
11. Rosenberg, A.Z.; Kopp, J.B. Focal segmental glomerulosclerosis. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **2017**, *12*, 502–517, doi:10.2215/CJN.05960616.

12. Korbet, S.M. Treatment of primary FSGS in adults. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2012**, *23*, 1769–1776, doi:10.1681/ASN.2012040389.
13. Angioi, A.; Pani, A. FSGS: from pathogenesis to the histological lesion. *J. Nephrol.* **2016**, *29*, 517–523, doi:10.1007/s40620-016-0333-2.
14. Gipson, P.E.; Gipson, D.S. Focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrol. Secrets Fourth Ed.* **2019**, *2016*, 186–191, doi:10.1016/B978-0-323-47871-7.00036-8.
15. Aso, Y. Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 in vascular inflammation and thrombosis Yoshimasa. *Front. Biosci.* **2007**, *12*, 2957–2966.
16. Rudnicki, M. FSGS recurrence in adults after renal transplantation. *Biomed Res. Int.* **2016**, *2016*, doi:10.1155/2016/3295618.
17. Beaudreuil, S.; Lorenzo, H.K.; Elias, M.; Obada, E.N.; Charpentier, B.; Durrbach, A. Optimal management of primary focal segmental glomerulosclerosis in adults. *Int. J. Nephrol. Renovasc. Dis.* **2017**, *10*, 97–107, doi:10.2147/IJNRD.S126844.
18. Ponticelli, C. Recurrence of focal segmental glomerular sclerosis (FSGS) after renal transplantation. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2010**, *25*, 25–31, doi:10.1093/ndt/gfp538.
19. Liu, Y.; Shi, Y.; Ren, R.; Xie, J.; Wang, W.; Chen, N. Advanced therapeutics in focal and segmental glomerulosclerosis. *Nephrology* **2018**, *23*, 57–61, doi:10.1111/nep.13463.
20. Beer, A.; Mayer, G.; Kronbichler, A. Treatment Strategies of Adult Primary Focal Segmental Glomerulosclerosis: A Systematic Review Focusing on the Last Two Decades. *Biomed Res. Int.* **2016**, *2016*, doi:10.1155/2016/4192578.
21. Klinger, M.; Perkowska-Ptasińska, A. Ogniskowe segmentowe stwardnienie kłębuszków nerkowych. *Nefrol Dial Pol* **2016**, 13–15.
22. Ren, H.; Shen, P.; Li, X.; Pan, X.; Zhang, W.; Chen, N. Tacrolimus versus cyclophosphamide in steroid-dependent or steroid-resistant focal segmental glomerulosclerosis: A randomized controlled trial. *Am. J. Nephrol.* **2013**, *37*, 84–90, doi:10.1159/000346256.
23. Raina, R.; Wang, J.; Sharma, A.; Chakraborty, R. Extracorporeal Therapies in the Treatment of Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Blood Purif.* **2020**, *49*, 513–523, doi:10.1159/000506277.
24. Ruggenti, P.; Ruggiero, B.; Cravedi, P.; Vivarelli, M.; Massella, L.; Marasà, M.; Chianca, A.; Rubis, N.; Ene-Iordache, B.; Rudnicki, M.; i in. Rituximab in steroid-dependent or frequently relapsing idiopathic nephrotic syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2014**, *25*, 850–863, doi:10.1681/ASN.2013030251.

25. Prytula, A.; Iijima, K.; Kamei, K.; Geary, D.; Gottlich, E.; Majeed, A.; Taylor, M.; Marks, S.D.; Tuchman, S.; Camilla, R.; i in. Rituximab in refractory nephrotic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* **2010**, *25*, 461–468, doi:10.1007/s00467-009-1376-6.
26. Wang Chia-shi, Schmidt Liverman Rochelle , GarroRouba, Roshan Punnoose George, Glumova Anastacia, Karp Alana, Jernigan Stephanie, and W.B. Ofatumumab for the Treatment of Childhood Nephrotic Syndrome. *Physiol. Behav.* **2018**, *176*, 139–148, doi:10.1007/s00467-017-3621-8.Ofatumumab.
27. Bonanni, A.; Rossi, R.; Murtas, C.; Ghiggeri, G.M. Low-dose ofatumumab for rituximab-resistant nephrotic syndrome. *BMJ Case Rep.* **2015**, *2015*, 1–4, doi:10.1136/bcr-2015-210208.
28. Chih-Chuan Yu, M.Sc., Alessia Fornoni, M.D., Ph.D., Astrid Weins, M.D., Ph.D., Samy Hakroush, M.D., Dony Maignel, Ph.D., Junichiro Sageshima, M.D., Linda Chen, M.D., Gaetano Ciancio, M.D., Faridi Mohd. Hafeez, Ph.D., Daniel Behr, Kirk N. Campbell, M.D., J, M.D. Abatacept in B7-1–Positive Proteinuric Kidney Disease Chih-Chuan. *Bone* **2006**, *23*, 1–7, doi:10.1056/NEJMoa1304572.Abatacept.
29. Sprenger-Mähr, H.; Zitt, E.; Soleiman, A.; Lhotta, K. Successful Treatment of Focal Segmental Glomerulosclerosis after Kidney Transplantation with Plasma Exchange and Abatacept in a Patient with Juvenile Rheumatoid Arthritis. *Case Rep. Transplant.* **2016**, *2016*, 1–4, doi:10.1155/2016/7137584.
30. Kristensen, T.; Ivarsen, P.; Povlsen, J.V. Unsuccessful Treatment with Abatacept in Recurrent Focal Segmental Glomerulosclerosis after Kidney Transplantation. *Case Reports Nephrol. Dial.* **2017**, *7*, 1–5, doi:10.1159/000454947.
31. Aparecida Da Silva, C.; Molinar Mauad Cintra, M.; De Castro Côbo, E.; Vinícius Da Silva, M.; Bichuette Custódio, F.; Rosa Miranda Corrêa, R.; Roberto Castellano, L.; Antônia Dos Reis, M.; Reis Machado, J. Renal biopsy: Use of biomarkers as a tool for the diagnosis of focal segmental glomerulosclerosis. *Dis. Markers* **2014**, *2014*, doi:10.1155/2014/192836.
32. Da Silva, C.A.; Araújo, L.S.; Dos Reis Monteiro, M.L.G.; De Moraes Pereira, L.H.; Da Silva, M.V.; Castellano, L.R.C.; Corrêa, R.R.M.; Dos Reis, M.A.; Machado, J.R. Evaluation of the diagnostic potential of UPAR as a biomarker in renal biopsies of patients with FSGS. *Dis. Markers* **2019**, *2019*, 1–7, doi:10.1155/2019/1070495.
33. Hamano, K.; Iwano, M.; Akai, Y.; Sato, H.; Kubo, A.; Nishitani, Y.; Uyama, H.; Yoshida, Y.; Miyazaki, M.; Shiiki, H.; i in. Expression of glomerular plasminogen activator inhibitor type 1 in glomerulonephritis. *Am. J. Kidney Dis.* **2002**, *39*, 695–705,

- doi:10.1053/ajkd.2002.31986.
34. Szabó, T.; Ambrus, L.; Zákány, N.; Balla, G.; Bíró, T. Regulation of TRPC6 ion channels in podocytes - Implications for focal segmental glomerulosclerosis and acquired forms of proteinuric diseases (Review). *Acta Physiol. Hung.* **2015**, *102*, 241–251, doi:10.1556/036.102.2015.3.2.
 35. Hasegawa, K.; Sakamaki, Y.; Tamaki, M.; Wakino, S. Nicotinamide mononucleotide ameliorates adriamycin-induced renal damage by epigenetically suppressing the NMN/NAD consumers mediated by Twist2. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 1–17, doi:10.1038/s41598-022-18147-2.
 36. Giannico, G.; Yang, H.; Neilson, E.G.; Fogo, A.B. Dystroglycan in the diagnosis of FSGS. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **2009**, *4*, 1747–1753, doi:10.2215/CJN.01510209.
 37. Korzeniecka-Kozerska, A.; Wasilewska, A.; Tenderenda, E.; Sulik, A.; Cybulski, K. Urinary MMP-9/NGAL ratio as a potential marker of FSGS in nephrotic children. *Dis. Markers* **2013**, *34*, 357–362, doi:10.3233/DMA-130980.
 38. Chang, J.M.; Kuo, M.C.; Kuo, H.T.; Chiu, Y.W.; Chen, H.C. Increased glomerular and extracellular malondialdehyde levels in patients and rats with diabetic nephropathy. *J. Lab. Clin. Med.* **2005**, *146*, 210–215, doi:10.1016/j.lab.2005.05.007.
 39. Spiegel, J.O.; Houten, B. Van; Durrant, J.D. PARP1: Structural Insights and Pharmacological Targets for Inhibition. **2022**, 1–35, doi:10.1016/j.dnarep.2021.103125.PARP1.
 40. Donizy, P.; Wu, C.L.; Mull, J.; Fujimoto, M.; Chłópek, A.; Peng, Y.; Shalin, S.C.; Selim, M.A.; Puig, S.; Fernandez-Figueras, M.T.; i in. Up-Regulation of PARP1 Expression Significantly Correlated with Poor Survival in Mucosal Melanomas. *Cells* **2020**, *9*, 1–12, doi:10.3390/cells9051135.
 41. Donizy, P.; Pietrzyk, G.; Halon, A.; Kozyra, C.; Gansukh, T.; Lage, H.; Surowiak, P.; Matkowski, R. Nuclear-cytoplasmic PARP-1 expression as an unfavorable prognostic marker in lymph node-negative early breast cancer: 15-year follow-up. *Oncol. Rep.* **2014**, *31*, 1777–1787, doi:10.3892/or.2014.3024.
 42. Langelier M-F, Planck J. L. , Roy S., and P.J.M. Structural basis for DNA-dependent poly(ADP-ribosyl)ation by human PARP-1. *Bone* **2008**, *23*, 1–7, doi:10.1038/nature08365.Reconstructing.
 43. Mukhopadhyay, P.; Horváth, B.; Kechrid, M.; Tanchian, G.; Rajesh, M.; Naura, A.S.; Boulares, A.H.; Pacher, P. Poly(ADP-ribose)polymerase-1 is a key mediator of cisplatin-induced kidney inflammation and injury. *Free Radic. Biol. Med.* **2011**, *51*,

- 1774, doi:10.1016/J.FREERADBIOMED.2011.08.006.
44. Salech, F.; Ponce, D.P.; Paula-Lima, A.C.; SanMartin, C.D.; Behrens, M.I. Nicotinamide, a Poly [ADP-Ribose] Polymerase 1 (PARP-1) Inhibitor, as an Adjunctive Therapy for the Treatment of Alzheimer’s Disease. *Front. Aging Neurosci.* **2020**, *12*, 1–10, doi:10.3389/fnagi.2020.00255.
 45. Pacher, P.; Szabó, C. Role of poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1) in cardiovascular diseases: The therapeutic potential of PARP inhibitors. *Cardiovasc. Drug Rev.* **2007**, *25*, 235–260, doi:10.1111/j.1527-3466.2007.00018.x.
 46. O’Valle, F.; Del Moral, R.G.M.; del Carmén Benítez, M.; Martín-Oliva, D.; Gómez-Morales, M.; Aguilar, D.; Aneiros-Fernández, J.; Hernández-Cortés, P.; Osuna, A.; Moreso, F.; i in. Poly[ADP-ribose] polymerase-1 expression is related to cold ischemia, acute tubular necrosis, and delayed renal function in kidney transplantation. *PLoS One* **2009**, *4*, doi:10.1371/journal.pone.0007138.
 47. Pil, S.; Jinu, Y. Poly (ADP-ribose) polymerase 1 activation links ischemic acute kidney injury to interstitial fibrosis. **2015**, 105–111, doi:10.1007/s12576-014-0346-3.
 48. Zheng, J.; Devalaraja-narashimha, K.; Singaravelu, K.; Padanilam, B.J.; Devalaraja-narashimha, K.; Sin-, K.; Adp-ribose, B.J.P.P. Poly (ADP-ribose) polymerase-1 gene ablation protects mice from ischemic renal injury. **2021**, 5850, doi:10.1152/ajprenal.00436.2003.
 49. Slominska, E.M.; Kowalik, K.; Smolenski, R.T.; Szolkiewicz, M.; Rutkowski, P.; Rutkowski, B.; Swierczynski, J. Accumulation of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors in children with chronic renal failure. *Pediatr. Nephrol.* **2006**, *21*, 800–806, doi:10.1007/s00467-006-0072-z.
 50. Neelakshi R. Jog, Joudy-Ann Dinnall†, Stefania Gallucci†, Michael P. Madaio‡, R.C. Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 Regulates the Progression of Autoimmune Nephritis in Males by Inducing Necrotic Cell Death and Modulating Inflammation1. *Physiol. Behav.* **2019**, *176*, 139–148, doi:10.4049/jimmunol.0803565.Poly(ADP-Ribose).
 51. Neelakshi R. Joga, and R.C. 17β Estradiol Regulates Adhesion Molecule Expression in Mesangial Cells during Glomerulonephritis. *Physiol. Behav.* **2019**, *176*, 139–148, doi:10.1016/j.clim.2015.04.009.17.
 52. Suarez-Fuentetaja, N.; Domenech-Garcia, N.; Paniagua-Martin, M.J.; Marzoa-Rivas, R.; Barge-Caballero, E.; Grille-Cancela, Z.; Pombo-Otero, J.; Muñiz-García, J.; Castro-Beiras, A.; Crespo-Leiro, M.G. Indoleamine, 2-3 dioxygenase activity could be an early marker of graft rejection in heart transplantation. *Transplant. Proc.* **2012**, *44*,

- 2645–2648, doi:10.1016/j.transproceed.2012.09.036.
53. Quan, J.; Tan, P.H.; MacDonald, A.; Friend, P.J. Manipulation of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) for clinical transplantation: Promises and challenges. *Expert Opin. Biol. Ther.* **2008**, *8*, 1705–1719, doi:10.1517/14712598.8.11.1705.
 54. Li, J.; Meinhardt, A.; Roehrich, M.E.; Golshayan, D.; Dudler, J.; Pagnotta, M.; Trucco, M.; Vassalli, G. Indoleamine 2,3-dioxygenase gene transfer prolongs cardiac allograft survival. *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.* **2007**, *293*, doi:10.1152/ajpheart.00532.2007.
 55. Munn, D.H.; Sharma, M.D.; Lee, J.R.; Jhaver, K.G.; Johnson, T.S.; Keskin, D.B.; Marshall, B.; Chandler, P.; Scott, J.; Burgess, R.; i in. American Association for the Advancement of Science. **2016**.
 56. Pan, B.; Zhang, H.; Hong, Y.; Ma, M.; Wan, X.; Cao, C. Indoleamine-2,3-dioxygenase activates Wnt/ β -Catenin inducing kidney fibrosis after acute kidney injury. *Gerontology* **2021**, *67*, 611–619, doi:10.1159/000515041.
 57. Nelp, M.T.; Kates, P.A.; Hunt, J.T.; Newitt, J.A.; Balog, A.; Maley, D.; Zhu, X.; Abell, L.; Allentoff, A.; Borzilleri, R.; i in. Immune-modulating enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase is effectively inhibited by targeting its apo-form. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2018**, *115*, 3249–3254, doi:10.1073/pnas.1719190115.
 58. Xie, X.; Yang, X.; Wu, J.; Tang, S.; Yang, L.L.; Fei, X.; Wang, M. Exosome from indoleamine 2,3-dioxygenase-overexpressing bone marrow mesenchymal stem cells accelerates repair process of ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury by regulating macrophages polarization. *Stem Cell Res. Ther.* **2022**, *13*, 1–14, doi:10.1186/s13287-022-03075-9.
 59. Pan, B.; Zhang, F.; Sun, J.; Chen, D.; Huang, W.; Zhang, H.; Cao, C.; Wan, X. Correlation of Indoleamine-2,3-Dioxygenase and Chronic Kidney Disease: A Pilot Study. *J. Immunol. Res.* **2021**, *2021*, 1–9, doi:10.1155/2021/8132569.
 60. Zhang, Y.; Ruan, Y.; Zhang, P.; Wang, L. Increased indoleamine 2,3-dioxygenase activity in type 2 diabetic nephropathy. *J. Diabetes Complications* **2017**, *31*, 223–227, doi:10.1016/j.jdiacomp.2016.08.020.
 61. Donizy, P.; Wu, C.L.; Kopczynski, J.; Pieniazek, M.; Biecek, P.; Ryś, J.; Hoang, M.P. Prognostic role of tumoral pd-11 and ido1 expression, and intratumoral cd8+ and foxp3+ lymphocyte infiltrates in 132 primary cutaneous merkel cell carcinomas. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 1–13, doi:10.3390/ijms22115489.
 62. Liu, K.; Yang, Y.; Chen, Y.; Li, S.; Gong, Y.; Liang, Y. The therapeutic effect of

- dendritic cells expressing indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) on an IgA nephropathy mouse model. *Int. Urol. Nephrol.* **2020**, *52*, 399–407, doi:10.1007/s11255-019-02365-1.
63. Yang Y, Liu K, Chen Y, Gong Y, L.Y. Indoleamine 2,3-Dioxygenase (IDO) Regulates Th17/Treg Immunity in Experimental IgA Nephropathy. *Folia Biol* **2019**, *65*, 101–108.
 64. Davison, L.M.; Liu, J.C.; Huang, L.; Carroll, T.M.; Mellor, A.L.; Jørgensen, T.N. Limited effect of indolamine 2,3-dioxygenase expression and enzymatic activity on lupus-like disease in b6.Nba2 mice. *Front. Immunol.* **2019**, *10*, 1–11, doi:10.3389/fimmu.2019.02017.
 65. Kapil Chaudhary, Rahul Shinde, Haiyun Liu, Jaya P. Gnana-Prakasam, Rajalakshmi Veeranan-Karmegam, Lei Huang, Buvana Ravishankar, Jillian Bradley, Nino Kvirkvelia, Malgorzata McManamin, Wei Xiao, Daniel Kleven, Andrew L. Mellor, Michael, T.L.M. Amino acid metabolism inhibits antibody-driven kidney injury by inducing autophagys. *Comput Inf. Nurs.* 2016 May ; *34(5)* 206–213. doi:10.1097/CIN.0000000000000231. **2016**, *34*, 206–213., doi:10.4049/jimmunol.1500277.Amino.
 66. Hou, W.; Huang, G.; Cao, X.; Zhang, Y.; Zhang, J.; Li, Y. Suppression of experimental autoimmune glomerulonephritis by tryptophan. *J. Nephrol.* **2014**, *27*, 19–28, doi:10.1007/s40620-013-0020-5.
 67. Winnicki, W.; Sunder-Plassmann, G.; Sengölge, G.; Handisurya, A.; Herkner, H.; Kornauth, C.; Bielez, B.; Wagner, L.; Kikić, Ž.; Pajenda, S.; i in. Diagnostic and Prognostic Value of Soluble Urokinase-type Plasminogen Activator Receptor (suPAR) in Focal Segmental Glomerulosclerosis and Impact of Detection Method. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, doi:10.1038/S41598-019-50405-8.
 68. Spinale, J.M.; Mariani, L.H.; Kapoor, S.; Zhang, J.; Weyant, R.; Song, P.X.; Wong, H.N.; Troost, J.P.; Gadegbeku, C.A.; Gipson, D.S.; i in. A reassessment of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor in glomerular disease. *Kidney Int.* **2015**, *87*, 564–574, doi:10.1038/ki.2014.346.
 69. Harel, E.; Shoji, J.; Abraham, V.; Miller, L.; Laszik, Z.; Thurison, T.; King, A.; Olshen, A.; Leung, J.; Szabo, G.; i in. Identifying a potential biomarker for primary focal segmental glomerulosclerosis and its association with recurrence after transplantation. *Clin. Transplant.* **2019**, *33*, doi:10.1111/CTR.13487.
 70. Huang, J.; Liu, G.; Zhang, Y.M.; Cui, Z.; Wang, F.; Liu, X.J.; Chu, R.; Chen, Y.; Zhao, M.H. Plasma soluble urokinase receptor levels are increased but do not distinguish

- primary from secondary focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int.* **2013**, *84*, 366–372, doi:10.1038/ki.2013.55.
71. Hladunewich, M.A.; Cattran, D.; Sethi, S.M.; Hayek, S.S.; Li, J.; Wei, C.; Mullin, S.I.; Reich, H.N.; Reiser, J.; Fervenza, F.C. Efficacy of Rituximab in Treatment-Resistant Focal Segmental Glomerulosclerosis With Elevated Soluble Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor and Activation of Podocyte β 3 Integrin. *Kidney Int. reports* **2021**, *7*, 68–77, doi:10.1016/J.EKIR.2021.10.017.
 72. Sun, P.; Yu, L.; Huang, J.; Wang, S.; Zou, W.; Yang, L.; Liu, G. Soluble Urokinase Receptor Levels in Secondary Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Kidney Dis.* **2019**, *5*, 239–246, doi:10.1159/000497353.
 73. Meijers, B.; Maas, R.J.H.; Sprangers, B.; Claes, K.; Poesen, R.; Bammens, B.; Naesens, M.; Deegens, J.K.J.; Dietrich, R.; Storr, M.; i in. The soluble urokinase receptor is not a clinical marker for focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int.* **2014**, *85*, 636–640, doi:10.1038/ki.2013.505.
 74. Wada, T.; Nangaku, M.; Maruyama, S.; Imai, E.; Shoji, K.; Kato, S.; Endo, T.; Muso, E.; Kamata, K.; Yokoyama, H.; i in. A multicenter cross-sectional study of circulating soluble urokinase receptor in Japanese patients with glomerular disease. *Kidney Int.* **2014**, *85*, 641–648, doi:10.1038/ki.2013.544.
 75. Franco Palacios, C.R.; Lieske, J.C.; Wadei, H.M.; Rule, A.D.; Fervenza, F.C.; Voskoboev, N.; Garovic, V.D.; Zand, L.; Stegall, M.D.; Cosio, F.G.; i in. Urine but not serum soluble urokinase receptor (suPAR) may identify cases of recurrent FSGS in kidney transplant candidates. *Transplantation* **2013**, *96*, 394–399, doi:10.1097/TP.0b013e3182977ab1.
 76. Mukut Sharma, Jianping Zhou, Jean-François Gauchat, Ram Sharma, Ellen T. McCarthy, Tarak Srivastava, and V.J.S. JAK2/STAT3 Inhibitors Attenuate the Effect of Cardiotrophin- Like Cytokine Factor-1 and Human Focal Segmental Glomerulosclerosis Serum on Glomerular Filtration Barrier. *Physiol. Behav.* **2016**, *176*, 100–106, doi:10.1016/j.trsl.2015.03.002.JAK2/STAT3.
 77. Abuzeineh, M.; Aala, A.; Alasfar, S.; Alachkar, N. Angiotensin II receptor 1 antibodies associate with post-transplant focal segmental glomerulosclerosis and proteinuria. *BMC Nephrol.* **2020**, *21*, 1–8, doi:10.1186/s12882-020-01910-w.
 78. Zhou, C.C. Eclampsia in Pregnant Mice. **2012**, *14*, 855–862, doi:10.1038/nm.1856.Angiotensin.
 79. Sas, A.; Donizy, P.; Kościelska-Kasprzak, K.; Kamińska, D.; Mazanowska, O.;

- Krajewska, M.; Chudoba, P.; Korta, K.; Hałoń, A.; Klinger, M.; i in. Histopathological Relevance of Angiotensin II Type 1 Receptor in Renal Transplant Biopsy. *Transplant. Proc.* **2018**, *50*, 1847–1849, doi:10.1016/j.transproceed.2018.02.137.
80. Sas-Strózik, A.; Donizy, P.; Kościelska-Kasprzak, K.; Kamińska, D.; Gawlik, K.; Mazanowska, O.; Madziarska, K.; Hałoń, A.; Krajewska, M.; Banasik, M. Angiotensin II Type 1 Receptor Expression in Renal Transplant Biopsies and Anti-AT1R Antibodies in Serum Indicates the Risk of Transplant Loss. *Transplant. Proc.* **2020**, *52*, 2299–2304, doi:10.1016/j.transproceed.2020.01.126.
81. Mujtaba, M.A.; Sharfuddin, A.A.; Book, B.L.; Goggins, W.C.; Khalil, A.A.; Mishler, D.P.; Fridell, J.A.; Yaqub, M.S.; Taber, T.E. Pre-transplant angiotensin receptor II type 1 antibodies and risk of post-transplant focal segmental glomerulosclerosis recurrence. *Clin. Transplant.* **2015**, *29*, 606–611, doi:10.1111/ctr.12562.
82. Frishberg, Y.; Becker-cohen, R.; Halle, D.; Feigin, E.; Eisenstein, B.; Halevy, R.; Lotan, D.; Juabeh, I.; Ish-shalom, N.; Magen, D.; i in. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and the outcome of focal segmental glomerulosclerosis in children. *Kidney Int.* **1998**, *54*, 1843–1849, doi:10.1046/j.1523-1755.1998.00218.x.
83. Keeling, J.; Herrera, G.A. Human matrix metalloproteinases: Characteristics and pathologic role in altering mesangial homeostasis. *Microsc. Res. Tech.* **2008**, *71*, 371–379, doi:10.1002/jemt.20565.
84. Tallant, C.; Marrero, A.; Gomis-Rüth, F.X. Matrix metalloproteinases: Fold and function of their catalytic domains. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* **2010**, *1803*, 20–28, doi:10.1016/j.bbamcr.2009.04.003.
85. Bauvois, B.; Mothu, N.; Nguyen, J.; Nguyen-Khoa, T.; Noël, L.H.; Jungers, P. Specific changes in plasma concentrations of matrix metalloproteinase-2 and -9, TIMP-1 and TGF- β 1 in patients with distinct types of primary glomerulonephritis. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2007**, *22*, 1115–1122, doi:10.1093/ndt/gfl743.
86. Liu, S.; Li, Y.; Zhao, H.; Chen, D.; Huang, Q.; Wang, S.; Zou, W.; Zhang, Y.; Li, X.; Huang, H. Increase in extracellular cross-linking by tissue transglutaminase and reduction in expression of MMP-9 contribute differentially to focal segmental glomerulosclerosis in rats. *Mol. Cell. Biochem.* **2006**, *284*, 9–17, doi:10.1007/s11010-005-9005-6.
87. Chang, H.R.; Kuo, W.H.; Hsieh, Y.S.; Yang, S.F.; Lin, C.C.; Lee, M.L.; Lian, J. Da; Chu, S.C. Circulating matrix metalloproteinase-2 is associated with cystatin C level, posttransplant duration, and diabetes mellitus in kidney transplant recipients. *Transl.*

- Res.* **2008**, *151*, 217–223, doi:10.1016/j.trsl.2007.12.004.
88. Czech, K.A.; Bennett, M.; Devarajan, P. Distinct metalloproteinase excretion patterns in focal segmental glomerulosclerosis. *Pediatr. Nephrol.* **2011**, *26*, 2179–2184, doi:10.1007/s00467-011-1897-7.
 89. Gee, S.H.; Montanaro, F.; Lindenbaum, M.H.; Carbonetto, S. Dystroglycan- α , a dystrophin-associated glycoprotein, is a functional agrin receptor. *Cell* **1994**, *77*, 675–686, doi:10.1016/0092-8674(94)90052-3.
 90. Timpl, R.; Tisi, D.; Talts, J.F.; Andac, Z.; Sasaki, T.; Hohenester, E. Structure and function of laminin LG modules. *Matrix Biol.* **2000**, *19*, 309–317, doi:10.1016/S0945-053X(00)00072-X.
 91. Regele, H.M.; Fillipovic, E.; Langer, B.; Poczewki, H.; Kraxberger, I.; Bittner, R.E.; Kerjaschki, D. Glomerular expression of dystroglycans is reduced in minimal change nephrosis but not in focal segmental glomerulosclerosis. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2000**, *11*, 403–412.
 92. Shankar, P.B.; Nada, R.; Joshi, K.; Kumar, A.; Rayat, C.S.; Sakhuja, V. Podocin and Beta Dystroglycan expression to study Podocyte-Podocyte and basement membrane matrix connections in adult protienuric states. *Diagn. Pathol.* **2014**, *9*, 1–9, doi:10.1186/1746-1596-9-40.
 93. Wilflingseder, J.; Reindl-Schwaighofer, R.; Sunzenauer, J. Europe PMC Funders Group microRNAs in Kidney Transplantation. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2015**, *30*, 910–917, doi:10.1093/ndt/gfu280.microRNAs.
 94. Zhang, Q.; Jiang, C.; Tang, T.; Wang, H.; Xia, Y.; Shao, Q.; Zhang, M. Clinical Significance of Urinary Biomarkers in Patients With Primary Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Am. J. Med. Sci.* **2018**, *355*, 314–321, doi:10.1016/j.amjms.2017.12.019.
 95. Gebeshuber, C.A.; Kornauth, C.; Dong, L.; Sierig, R.; Seibler, J.; Reiss, M.; Tauber, S.; Bilban, M.; Wang, S.; Kain, R.; i in. Focal segmental glomerulosclerosis is induced by microRNA-193a and its downregulation of WT1. *Nat. Med.* **2013**, *19*, 481–487, doi:10.1038/nm.3142.
 96. Paust, H.J.; Ostmann, A.; Erhardt, A.; Turner, J.E.; Velden, J.; Mittrücker, H.W.; Sparwasser, T.; Panzer, U.; Tiegs, G. Regulatory T cells control the Th1 immune response in murine crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int.* **2011**, *80*, 154–164, doi:10.1038/ki.2011.108.
 97. Barabadi, M.; Shahbaz, S.K.; Foroughi, F.; Hosseinzadeh, M.; Nafar, M.; Yekaninejad,

- M.S.; Amirzargar, A. High expression of FOXP3 mRNA in blood and urine as a predictive marker in kidney transplantation. *Prog. Transplant.* **2018**, *28*, 134–141, doi:10.1177/1526924818765812.
98. Strehlau, J.; Schachter, A.D.; Pavlakis, M.; Singh, A.; Tejani, A.; Strom, T.B. Activated intrarenal transcription of CTL-effectors and TGF- β 1 in children with focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int.* **2002**, *61*, 90–95, doi:10.1046/j.1523-1755.2002.00090.x.
99. Becker, L.E.; Koleganova, N.; Piecha, G.; Noronha, I.L.; Zeier, M.; Geldyyev, A.; Kökeny, G.; Ritz, E.; Gross, M.L. Effect of paricalcitol and calcitriol on aortic wall remodeling in uninephrectomized ApoE knockout mice. *Am. J. Physiol. - Ren. Physiol.* **2011**, *300*, 772–782, doi:10.1152/ajprenal.00042.2010.
100. Nakamaki, S.; Satoh, H.; Kudoh, A.; Hayashi, Y.; Hirai, H.; Watanabe, T. Adiponectin reduces proteinuria in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. *Exp. Biol. Med.* **2011**, *236*, 614–620, doi:10.1258/ebm.2011.010218.
101. Marwitz, S.; Abdullah, M.; Vock, C.; Fine, J.S.; Visvanathan, S.; Gaede, K.I.; Hauber, H.P.; Zabel, P.; Goldmann, T. HOPE-BAL: Improved molecular diagnostics by application of a novel technique for fixation and paraffin embedding. *J. Histochem. Cytochem.* **2011**, *59*, 601–614, doi:10.1369/0022155411404417.
102. Vieira, V.J.; D’Acampora, A.J.; Marcos, A.B.W.; Di Giunta, G.; De Vasconcellos, Z.A.A.; Bins-Ely, J.; D’Eça Neves, R.; Figueiredo, C.P. Vascular endothelial growth factor overexpression positively modulates the characteristics of periprosthetic tissue of polyurethane-coated silicone breast implant in rats. *Plast. Reconstr. Surg.* **2010**, *126*, 1899–1910, doi:10.1097/PRS.0b013e3181f446d5.
103. Koch, A.; Voigt, S.; Kruschinski, C.; Sanson, E.; Dückers, H.; Horn, A.; Yagmur, E.; Zimmermann, H.; Trautwein, C.; Tacke, F. Circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor is stably elevated during the first week of treatment in the intensive care unit and predicts mortality in critically ill patients. *Crit. Care* **2011**, *15*, 1–14, doi:10.1186/cc10037.
104. Yamamoto, T.; Noble, N.A.; Cohen, A.H.; Nast, C.C.; Hishida, A.M.I.; Gold, L.I.; Border, W.A. Expression of transforming growth factor-n isoforms in human glomerular diseases. **1996**, *49*, 461–469.
105. Wu, D.T.; Bitzer, M.; Ju, W.; Mundel, P.; Bo, E.P. Profiles of Growth Arrest / Differentiation and Apoptosis in Podocytes. 3211–3221, doi:10.1681/ASN.2004121055.

106. Mozes, M.M.; Böttinger, E.P.; Jacot, T.A.; Kopp, J.B. Renal expression of fibrotic matrix proteins and of transforming growth factor- β (TGF- β) isoforms in TGF- β transgenic mice. *J. Am. Soc. Nephrol.* **1999**, *10*, 271–280.
107. Wei, C.; Hindi, S. El; Li, J.; Fornoni, A.; Goes, N.; Sageshima, J.; Maiguel, D.; Karumanchi, S.A.; Yap, H.; Saleem, M.; i in. Circulating urokinase receptor as a cause of focal segmental glomerulosclerosis. *Nat. Med.* **2011**, *17*, 952–960, doi:10.1038/nm.2411.
108. Neria, F.; Castilla, M.A.; Sanchez, R.F.; Gonzalez Pacheco, F.R.; Deudero, J.J.P.; Calabia, O.; Tejedor, A.; Manzarbeitia, F.; Ortiz, A.; Caramelo, C. Inhibition of JAK2 protects renal endothelial and epithelial cells from oxidative stress and cyclosporin A toxicity. *Kidney Int.* **2009**, *75*, 227–234, doi:10.1038/ki.2008.487.
109. Chen, R.; Ovbiagele, B.; Feng, W. Diabetes and Stroke: Epidemiology, Pathophysiology, Pharmaceuticals and Outcomes. *Am. J. Med. Sci.* **2016**, *351*, 380–386, doi:10.1016/j.amjms.2016.01.011.
110. Flower, D.R. The lipocalin protein family: Structure and function. *Biochem. J.* **1996**, *318*, 1–14, doi:10.1042/bj3180001.
111. Bennett, M.; Dent, C.L.; Ma, Q.; Dastrala, S.; Grenier, F.; Workman, R.; Syed, H.; Ali, S.; Barasch, J.; Devarajan, P. Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: A prospective study. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **2008**, *3*, 665–673, doi:10.2215/CJN.04010907.
112. Tryggvason, K.; Pettersson, E. Causes and consequences of proteinuria: The kidney filtration barrier and progressive renal failure. *J. Intern. Med.* **2003**, *254*, 216–224, doi:10.1046/j.1365-2796.2003.01207.x.
113. Youssef, D.M.; El-shal, A.S. Kidney Diseases Urinary Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin and Kidney Injury in Children With Focal Segmental Glomerulosclerosis. **2012**, *6*, 355–360.
114. Ece, A.; Kelekçi, S.; Kocamaz, H.; Hekimoğlu, A.; Balik, H.; Yolbaş, I.; Erel, O. Antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation, and total antioxidant status in children with Henoch-Schönlein purpura. *Clin. Rheumatol.* **2008**, *27*, 163–169, doi:10.1007/s10067-007-0671-5.
115. Chen, B.Y.; Lin, D.P.C.; Wu, C.Y.; Teng, M.C.; Sun, C.Y.; Tsai, Y.T.; Su, K.C.; Wang, S.R.; Chang, H.H. Dietary zerumbone prevents mouse cornea from UVB-induced photokeratitis through inhibition of NF- κ B, iNOS, and TNF- α expression and reduction of MDA accumulation. *Mol. Vis.* **2011**, *17*, 854–863.

116. DeNicola, G.M.; Karreth, F. a; Humpton, T.J.; Gopinathan, A.; Wei, C.; Frese, K.; Mangal, D.; Yu, K.H.; Yeo, C.J.; Eric, S.; i in. HHS Public Access Author manuscript Nature. Author manuscript; available in PMC 2012 July 25. Published in final edited form as: Nature. ; 475(7354): 106–109. doi:10.1038/nature10189. Oncogene-induced Nrf2 transcription promotes ROS detoxification and tum. *Nature* **2012**, 475, 106–109, doi:10.1038/nature10189.Oncogene-induced.
117. Rydel, J.J.; Korbet, S.M.; Borok, R.Z.; Schwartz, M.M. Focal segmental glomerular sclerosis in adults: Presentation, course, and response to treatment. *Am. J. Kidney Dis.* **1995**, 25, 534–542, doi:10.1016/0272-6386(95)90120-5.
118. Woo, K.T.; Chan, C.M.; Foo, M.; Lim, C.; Choo, J.; Chin, Y.M.; Teng, E.W.L.; Mok, I.; Kwek, J.L.; Tan, H.Z.; i in. Impact of focal segmental glomerulosclerosis over the past decade . *Clin. Nephrol.* **2023**, 99, 128–140, doi:10.5414/cn111022.
119. Forster, B.M.; Nee, R.; Little, D.J.; Greasley, P.J.; Hughes, J.B.; Gordon, S.M.; Olson, S.W. Focal Segmental Glomerulosclerosis, Risk Factors for End Stage Kidney Disease, and Response to Immunosuppression. *Kidney360* **2021**, 2, 105–113, doi:10.34067/kid.0006172020.
120. Goumenos, D.S.; Tsagalis, G.; El Nahas, A.M.; Shortland, J.R.; Davlouros, P.; Vlachojannis, J.G.; Brown, C.B. Immunosuppressive treatment of idiopathic focal segmental glomerulosclerosis: A five-year follow-up study. *Nephron - Clin. Pract.* **2006**, 104, 75–82, doi:10.1159/000093993.
121. Troyanov, S.; Wall, C.A.; Miller, J.A.; Scholey, J.W.; Cattran, D.C. Focal and segmental glomerulosclerosis: Definition and relevance of a partial remission. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2005**, 16, 1061–1068, doi:10.1681/ASN.2004070593.
122. Stirling, C.M.; Mathieson, P.; Boulton-Jones, J.M.; Feehally, J.; Jayne, D.; Murray, H.M.; Adu, D. Treatment and outcome of adult patients with primary focal segmental glomerulosclerosis in five UK renal units. *QJM - Mon. J. Assoc. Physicians* **2005**, 98, 443–449, doi:10.1093/qjmed/hci072.
123. Swarnalatha, G.; Ram, R.; Ismal, K.M.; Vali, S.; Sahay, M.; Dakshinamurty, K. V Renal Data from Asia-Africa Focal and Segmental Glomerulosclerosis: Does Prognosis Vary with the Variants? *Saudi J Kidney Dis Transpl* **2015**, 26, 173–181.
124. Alhozali, H.M.; Ahmed, R.A.; Albeirouti, R.B.; Alotibi, F.A.; Ghazi, D.K.; Shikdar, M.A.; Alghamdi, M.K.; Al Zahrani, R.A. Histopathological and Clinical Findings of Biopsy-Proven Focal and Segmental Glomerulosclerosis: A Retrospective Study. *Cureus* **2022**, 14, doi:10.7759/cureus.23083.

125. Tang, X.; Xu, F.; Chen, D.M.; Zeng, C.H.; Liu, Z.H. The clinical course and long-term outcome of primary focal segmental glomerulosclerosis in Chinese adults. *Clin. Nephrol.* **2013**, *80*, 130–139, doi:10.5414/CN107607.
126. Zhu, Y.; Xu, W.; Wan, C.; Chen, Y.; Zhang, C. Prediction model for the risk of ESKD in patients with primary FSGS. *Int. Urol. Nephrol.* **2022**, *54*, 3211–3219, doi:10.1007/S11255-022-03254-W.
127. Jafry, N.; Ahmed, E.; Mubarak, M.; Kazi, J.; Akhter, F. Raised serum creatinine at presentation does not adversely affect steroid response in primary focal segmental glomerulosclerosis in adults. *Nephrol. Dial. Transplant* **2012**, *27*, 1101–1106, doi:10.1093/NDT/GFR430.
128. Cattran, D.C.; Rao, P. Long-term outcome in children and adults with classic focal segmental glomerulosclerosis. *Am. J. Kidney Dis.* **1998**, *32*, 72–79, doi:10.1053/ajkd.1998.v32.pm9669427.
129. Chun, M.J.; Korbet, S.M.; Schwartz, M.M.; Lewis, E.J. Focal segmental glomerulosclerosis in nephrotic adults: Presentation, prognosis, and response to therapy of the histologic variants. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2004**, *15*, 2169–2177, doi:10.1097/01.ASN.0000135051.62500.97.
130. Bagchi, S.; Agarwal, S.; Kalaivani, M.; Bhowmik, D.; Singh, G.; Mahajan, S.; Dinda, A. Primary FSGS in Nephrotic Adults: Clinical Profile, Response to Immunosuppression and Outcome. *Nephron* **2016**, *132*, 81–85, doi:10.1159/000442999.
131. Deegens, J.K.J.; Steenbergen, E.J.; Borm, G.F.; Wetzels, J.F.M. Pathological variants of focal segmental glomerulosclerosis in an adult Dutch population - Epidemiology and outcome. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2008**, *23*, 186–192, doi:10.1093/ndt/gfm523.
132. Sato, K.; Makabe, S.; Iwabuchi, Y.; Kojima, K.; Sato, M.; Moriyama, T.; Taneda, S.; Tsuchiya, K.; Nitta, K. Successful treatment with steroid and cyclosporine A in a patient with immunoglobulin A – proliferative glomerulonephritis with monoclonal immunoglobulin deposits.
133. Kawaguchi, T.; Imasawa, T.; Kadomura, M.; Kitamura, H.; Maruyama, S.; Ozeki, T.; Katafuchi, R.; Oka, K.; Isaka, Y.; Yokoyama, H.; i in. Focal segmental glomerulosclerosis histologic variants and renal outcomes based on nephrotic syndrome, immunosuppression and proteinuria remission. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2022**, *37*, 1679–1690, doi:10.1093/NDT/GFAB267.
134. Zee, J.; Liu, Q.; Smith, A.R.; Hodgins, J.B.; Rosenberg, A.; Gillespie, B.W.; Holzman,

- L.B.; Barisoni, L.; Mariani, L.H.; Adler, S.; i in. Kidney Biopsy Features Most Predictive of Clinical Outcomes in the Spectrum of Minimal Change Disease and Focal Segmental Glomerulosclerosis. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2022**, *33*, 1411–1426, doi:10.1681/ASN.2021101396.
135. Sosna, J.; Voigt, S.; Mathieu, S.; Lange, A.; Thon, L.; Davarnia, P.; Herdegen, T.; Linkermann, A.; Rittger, A.; Chan, F.K.M.; i in. TNF-induced necroptosis and PARP-1-mediated necrosis represent distinct routes to programmed necrotic cell death. *Cell. Mol. Life Sci.* **2014**, *71*, 331–348, doi:10.1007/s00018-013-1381-6.
136. Soldani, C.; Scovassi, A.I. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 cleavage during apoptosis: an update. *Apoptosis* **2002**, *7*, 321–328, doi:10.1023/A:1016119328968.
137. Cohen, M.S. Interplay between compartmentalized NAD⁺ synthesis and consumption: A focus on the PARP family. *Genes Dev.* **2020**, *34*, 254–262, doi:10.1101/gad.335109.119.
138. Maksimowski, N.A.; Scholey, J.W.; Williams, V.R. Sex and kidney ACE2 expression in primary focal segmental glomerulosclerosis: A NEPTUNE study. *PLoS One* **2021**, *16*, doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0252758.
139. Roca, N.; Martinez, C.; Jatem, E.; Madrid, A.; Lopez, M.; Segarra, A. Activation of the acute inflammatory phase response in idiopathic nephrotic syndrome: association with clinicopathological phenotypes and with response to corticosteroids. *Clin. Kidney J.* **2021**, *14*, 1207–1215, doi:10.1093/CKJ/SFAA247.
140. Srivastava¹, M.; * Y.T.; , Ofer Eidelman¹ , Catherine Jozwik¹, H.B.P. and R.M. Reduced PARP1 as a Serum Biomarker for Graft Rejection in Kidney Transplantation. *J. Proteomics Bioinform.* **2015**, *8*, doi:10.4172/JPB.1000350.
141. Debnath, S.; Velagapudi, C.; Redus, L.; Thameem, F.; Kasinath, B.; Hura, C.E.; Lorenzo, C.; Abboud, H.E.; O'Connor, J.C. Tryptophan Metabolism in Patients With Chronic Kidney Disease Secondary to Type 2 Diabetes: Relationship to Inflammatory Markers. *Int. J. Tryptophan Res.* **2017**, *10*, doi:10.1177/1178646917694600.
142. Hou, W.; Li, S.; Wu, Y.; Du, X.; Yuan, F. Inhibition of indoleamine 2, 3-dioxygenase-mediated tryptophan catabolism accelerates crescentic glomerulonephritis. *Clin. Exp. Immunol.* **2009**, *156*, 363–372, doi:10.1111/J.1365-2249.2009.03902.X.
143. Lassiter, R.; Merchen, T.D.; Fang, X.; Wang, Y. Protective Role of Kynurenine 3-Monooxygenase in Allograft Rejection and Tubular Injury in Kidney Transplantation. *Front. Immunol.* **2021**, *12*, 1–14, doi:10.3389/fimmu.2021.671025.
144. Wee, H.N.; Liu, J.J.; Ching, J.; Kovalik, J.P.; Lim, S.C. The Kynurenine Pathway in

- Acute Kidney Injury and Chronic Kidney Disease. *Am. J. Nephrol.* **2021**, *52*, 771–787, doi:10.1159/000519811.
145. Zakrocka, I.; Załuska, W. Kynurenine pathway in kidney diseases. *Pharmacol. Rep.* **2022**, *74*, 27–39, doi:10.1007/S43440-021-00329-W.
146. Schefold, J.C.; Zeden, J.P.; Fotopoulou, C.; Von Haehling, S.; Pschowski, R.; Hasper, D.; Volk, H.D.; Schuett, C.; Reinke, P. Increased indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) activity and elevated serum levels of tryptophan catabolites in patients with chronic kidney disease: a possible link between chronic inflammation and uraemic symptoms. *Nephrol. Dial. Transplant* **2009**, *24*, 1901–1908, doi:10.1093/NDT/GFN739.
147. Cernaro, V.; Loddo, S.; Macaione, V.; Ferlazzo, V.T.; Cigala, R.M.; Crea, F.; De Stefano, C.; Genovese, A.R.R.; Gembillo, G.; Bolignano, D.; i in. RAS inhibition modulates kynurenine levels in a CKD population with and without type 2 diabetes mellitus. *Int. Urol. Nephrol.* **2020**, *52*, 1125–1133, doi:10.1007/S11255-020-02469-Z.