



Universiteit
Leiden
The Netherlands

On the pathology of focal segmental glomerulosclerosis

Lest, N.A. van de

Citation

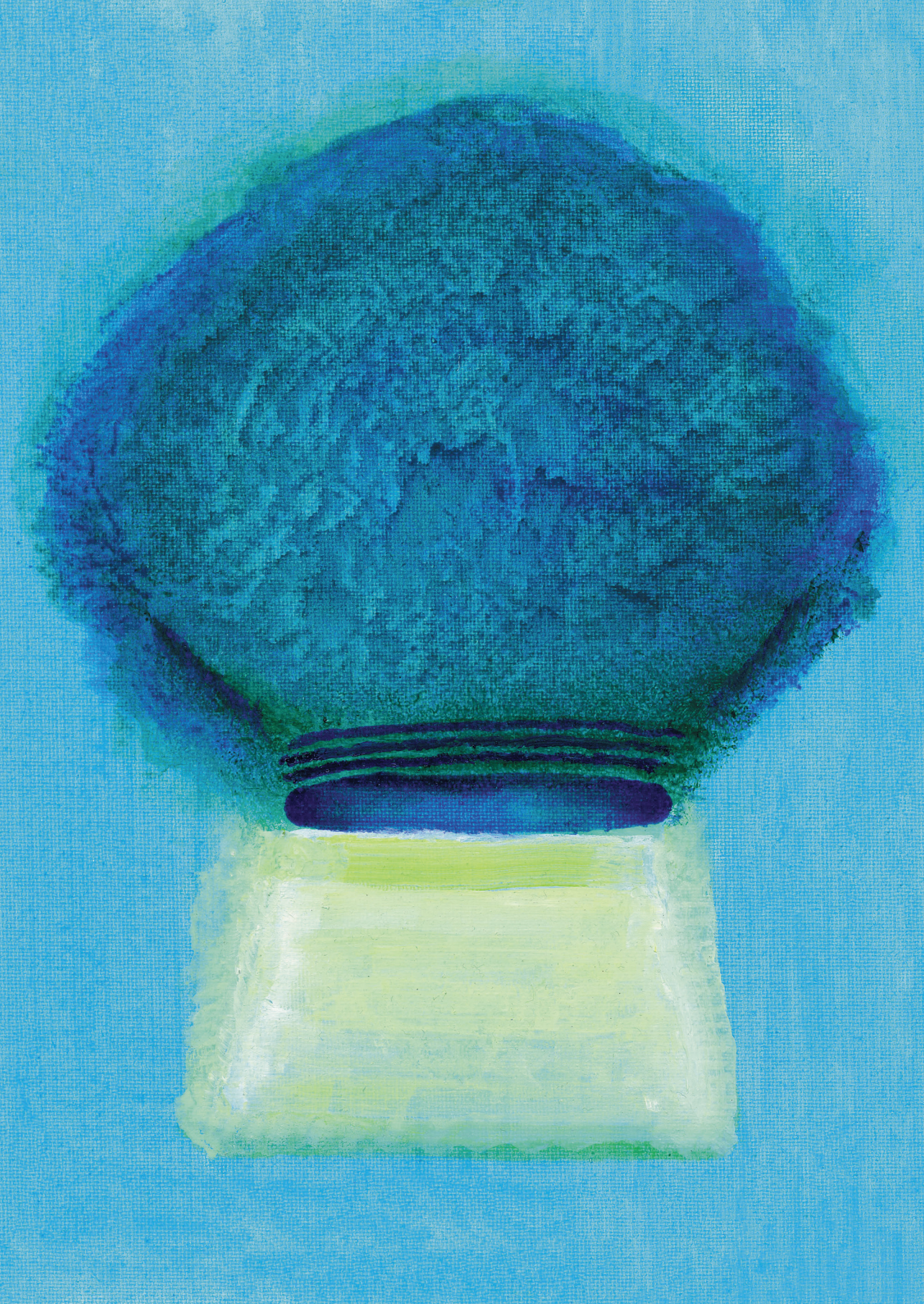
Lest, N. A. van de. (2023, January 19). *On the pathology of focal segmental glomerulosclerosis*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3512229>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3512229>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).





Nederlandse samenvatting

Nederlandse samenvatting

Focale segmentale glomerulosclerose (FSGS) is een aandoening waarbij de glomerulus, het filterlichaampje van de nier, wordt aangetast. De glomerulus is een uniek organel dat als taak heeft het bloed te filteren van afvalstoffen. Dit proces wordt gemedieerd door een drielaagse filtratiebarrière bestaande uit endotheelcellen, een glomerulair basaalmembraan en podocyten. Podocyten zijn de gespecialiseerde cellen die de buitenzijde van de glomerulus bekleden. FSGS wordt over het algemeen gekenmerkt door schade aan de podocyt. Wanneer de podocyt niet meer goed functioneert, leidt dat tot eiwitverlies in de urine, ook wel proteïnurie genoemd. Het filterlichaam van de nier is als het ware “lek”, en laat ten onrechte noodzakelijke eiwitten door waardoor ze in de urine terecht komen. Klinisch presenteren patiënten met FSGS zich vaak met het nefrotisch syndroom, dat wordt gekenmerkt door 1) massale proteïnurie, 2) een laag eiwitgehalte in het bloed (hypoalbuminemie), 3) een verhoogd cholesterolgehalte in het bloed en 4) perifere vochtretentie (oedeem). De diagnose FSGS kan gemaakt worden door middel van het afnemen van een klein stukje nierweefsel, een biopsie, waarop de afwijkingen passend bij FSGS gezien kunnen worden. Die afwijkingen worden gekarakteriseerd door laesies die een deel van de glomerulus aantasten (segmentaal) en in minder dan de helft van de glomeruli voorkomen (focaal). De meest voorkomende verandering is verlittekening van de glomerulus (sclerose). Door deze verlittekening van de glomerulus kan naast proteïnurie ook juist verstopping van het filterlichaam ontstaan. Hierdoor wordt de belangrijkste functie van de nier, namelijk het filteren van afvalstoffen uit het bloed, aangetast. Nierfunctieverlies kennen we in verschillende gradaties, maar kan in een eindstadium leiden tot de noodzaak voor dialyse of een niertransplantatie. Voor het beoordelen van de schade aan de podocyt die ten grondslag ligt aan het ontstaan van FSGS, is elektronenmicroscopie nodig, waarmee de kleinste veranderingen aan de architectuur van de podocyt in beeld kunnen worden gebracht. FSGS kan geïsoleerd voorkomen, waarbij er geen duidelijke onderliggende oorzaak voor het ontstaan wordt gevonden (primaire FSGS), of in combinatie met een verscheidenheid aan afwijkingen die de ontwikkeling van FSGS als gevolg kunnen hebben (secundaire FSGS), zoals andere nierziekten, virusinfecties of medicatie.

Hoewel we al sinds halverwege vorige eeuw van het bestaan van FSGS en bijkomende podocytschade weten, is er nog steeds weinig bekend over hoe deze podocytschade daadwerkelijk ontstaat en hoe dit vervolgens leidt tot het verlitteken van de glomerulus. De hoeksteen van de behandeling van patiënten met FSGS is hoog gedoseerde prednison, hoewel het werkingsmechanisme onbekend is. Bij veel patiënten met FSGS heeft deze behandeling goede resultaten. Echter zijn er ook vervelende en ernstige bijwerkingen aan deze behandeling gebonden en heeft het bij een substantieel deel van de patiënten geen effect.

Dit proefschrift

Met het werk in dit proefschrift is getracht om meer inzicht te krijgen in nieuwe mechanismen die een rol spelen bij het ontstaan en de progressie van FSGS. Daarbij is met name gekeken naar aanwijzingen voor een rol voor bepaalde pathofysiologische mechanismen in het weefsel van patiënten met FSGS. In **hoofdstukken 2, 3 en 4** van dit proefschrift staat podocytschade centraal. In de latere **hoofdstukken 5, 6 en 7** wordt onderzoek gedaan naar factoren anders dan podocytschade, die mogelijk een rol spelen bij de pathogenese van FSGS. Hierbij ligt de focus op complementactivatie en endotheelschade.

Podocytschade in FSGS en Minimal Change Disease

Een andere belangrijke nieraandoening die zich presenteert met podocytschade en proteïnurie is minimal change disease (MCD). Zowel MCD als FSGS worden gekenmerkt door podocytschade, maar waar er bij FSGS uiteindelijk verlittekening van de glomerulus optreedt, blijft de schade bij MCD beperkt tot ultrastructurele veranderingen van de podocyt: met elektronenmicroscopie ziet men afwijkingen aan de podocyten vergelijkbaar met FSGS, maar bij lichtmicroscopie worden nauwelijks afwijkingen van de glomerulus gezien. Vandaar de naam “minimal change” disease. Patiënten met MCD hebben in de regel een betere prognose dan patiënten met FSGS. Ze presenteren zich wel met een nefrotisch syndroom, maar dit leidt zelden tot verlies van nierfunctie. Dialyse of een niertransplantatie zijn bij patiënten met MCD vaak niet nodig. Desalniettemin ontwikkelen sommige patiënten met MCD toch nierfunctieverlies. Vaak zijn dat de patiënten bij wie in een vervolgbiopt FSGS laesies gevonden worden. In **hoofdstuk 2** van dit proefschrift wordt onderzocht of een bepaalde marker van podocytschade gebruikt kan worden om die patiënten met MCD te selecteren, die een grotere kans hebben op nierfunctieverlies. Deze marker is het molecuul nefrine. Nefrine is cruciaal voor podocytfunctie. Podocyten zijn uitermate gedifferentieerde cellen met een bijzondere architectuur. De cytoplasmatische uitlopers van de podocyt, genaamd voetpootjes, interdigiteren met de voetpootjes van naastgelegen podocyten, waarbij ze beurtelings een verbinding met de andere podocyt aangaan. De ruimte die tussen de podocyten overblijft noemen we de “slit pore.” De slit pore speelt een belangrijke rol bij het filteren van het bloed. Nefrine is het belangrijkste onderdeel van deze slit pore. In muismodellen is aangetoond dat segmentaal verlies van belangrijke podocytmoleculen aan de ontwikkeling van FSGS laesies voorafgaat. Omdat FSGS laesies vaak gezien worden in patiënten met MCD die nierfunctieverlies ontwikkelen, hebben we onderzocht of het lokaal verlies van nefrine, segmentaal of globaal, geassocieerd is met een slechtere prognose. De resultaten in **hoofdstuk 2** laten zien dat segmentaal en globaal verlies van nefrine regelmatig aanwezig is bij patiënten met MCD en daarnaast correleert met een lagere frequentie van



ziekeremissie en een hogere frequentie van nierfunctieverlies. Daarnaast neemt het risico op nierfunctieverlies toe naarmate nefrineverlies in een steeds groter aantal glomeruli wordt gezien. Deze bevindingen suggereren dat nefrineverlies in een biopt met MCD mogelijk een aanwijzing is voor een slechtere prognose.

Nieuwe spelers in het ontwikkelen van podocytschade: lessen van het Munich Wistar Frömter rat model

Het Munich Wistar Frömter (MWF) ratmodel is een veel gebruikt model voor onderzoek naar FSGS. **Hoofdstuk 3** van dit proefschrift beschrijft een uitgebreid genetisch onderzoek waaruit een aantal targetgenen is geïsoleerd, die het (FSGS) fenotype van de ratten kunnen verklaren. Het gen dat uit de analyse als sterkst naar voren komt, is *Tmem63c*. *Tmem63c* codeert voor het gelijknamige eiwit. Het eiwit TMEM63c is een transmembraaneiwit dat overeenkomsten heeft met door hyperosmolariteit activeerbare kationkanalen. Het onderzoek in **hoofdstuk 3** laat zien dat knockdown van TMEM63c in humane podocyten zorgt voor een verminderde cellulaire vitaliteit. In zebravissen leidt knockdown van *tmem63c* tot functieverlies van de glomerulaire filtratiebarrière, met proteïnurie als gevolg. Daarnaast laten patiënten met FSGS een verlies van TMEM63c eiwitexpressie in podocyten zien ten opzichte van gezonde controles. In **hoofdstuk 4** is onderzoek gedaan naar de functie van een ander gen dat is voortgekomen uit de genetische analyse van MWF ratten: *Ptgr2*. Door middel van knockdown van *PTGR2* kon zowel de genexpressie als de eiwitexpressie van PTGR2 verlaagd worden in humane podocyten. De resultaten van dit onderzoek laten zien dat cellen met minder PTGR2 na behandeling met het podocytotoxische middel “puromycine aminonucleoside” een toegenomen expressie hebben van moleculen die belangrijk zijn voor behoud van het podocytcytoskelet. Omdat eerdere studies hebben laten zien dat PTGR2 het peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) ligand 15-keto-PGE2 metaboliseert, is vervolgens onderzocht of *PTGR2* knockdown leidt tot verhoogde PPAR γ promotoractiviteit via een toename van biologische beschikbaarheid van 15-keto-PGE2. Inderdaad laten podocyten verhoogde expressie zien van pro-apoptotische downstream targets van PPAR γ na knockdown van *PTGR2*. Deze data suggereren dat PTGR2, via PPAR γ , mogelijk anti-apoptotische effecten op podocyten heeft, met name na blootstelling aan pathologische stimuli. Aanvullende studies zijn echter nodig om deze hypothese te bevestigen.

Het complementsysteem en FSGS

In **hoofdstuk 5** van dit proefschrift wordt bestudeerd of er aanwijzingen zijn voor complementactivatie in het weefsel van patiënten met FSGS. Het complementsysteem vormt onderdeel van het afweersysteem. Het omvat een set van tientallen eiwitten die geactiveerd kunnen worden door binnendringende pathogenen, zoals virussen



en bacteriën. Deze pathogenen worden door het complementsysteem herkend, waarna een cascade aan enzymreacties in gang wordt gezet die uiteindelijk leiden tot het opruimen van de indringer. Het complementsysteem heeft drie routes die elk geactiveerd worden door een ander mechanisme, maar tot hetzelfde eindproduct leiden. Naast dat het complementsysteem een belangrijke functie heeft in de afweer tegen pathogenen van buiten af, speelt het ook een belangrijke rol bij het opruimen van lichaamseigen schade, zoals dode of beschadigde cellen. Het complementsysteem is een veelzijdig, maar complex systeem, waarin een verstoorde balans snel kan zorgen voor overactivatie of activatie op het verkeerde moment. Complementactivatie is dan ook betrokken bij tal van ziekteprocessen. Ook in de nefrologie zijn complement-gemedieerde nierziekte een bekend fenomeen. De laatste decennia is duidelijk geworden dat ook bij niet klassieke complement-gemedieerde nierziekten, complementactivatie soms toch een rol speelt in het ziekteproces. FSGS wordt van oudsher niet gezien als een complement-gemedieerde nierziekte. Bij het beoordelen van het nierweefsel van patiënten met FSGS kunnen echter wel deposities van complementeiwitten gezien worden, maar omdat die deposities vaak in het verlittekende deel van de glomerulus worden gezien, wordt dit als specifiek beschouwd. Er is een aantal dierexperimentele studies die een rol voor complement in de ontwikkeling van FSGS laten zien. In het werk beschreven in **hoofdstuk 5** wordt daarom bestudeerd of complementactivatie mogelijk toch betrokken is bij het ontstaan van humane FSGS. Om dit aan te tonen is gebruik gemaakt van C4d. Onderzoekers hebben ontdekt dat C4d een stabiele biomarker is voor het detecteren van complementactivatie. Zelfs lang nadat complementactivatie heeft plaatsgevonden en andere componenten van het complementsysteem verdwenen zijn, kan C4d nog aangetoond worden. Dit komt omdat het covalent bindt aan het activatieoppervlak. Het werk in **hoofdstuk 5** laat zien dat C4d regelmatig wordt gezien in glomeruli van patiënten met FSGS. Niet alleen ten opzichte van gezonde controles, maar ook ten opzichte van patiënten met MCD. Daarnaast is het niet alleen aanwezig in de gescleroseerde gedeelten van glomeruli, maar ook in niet gescleroseerde gedeelten en zelfs in glomeruli waarin (nog) geen FSGS laesie gezien wordt. Deze resultaten duiden erop dat complementeiwitten niet alleen specifiek vastlopen in de verlittekening, maar dat er daadwerkelijk activatie van het complementsysteem plaatsvindt, mogelijk al voor het optreden van sclerose. Om dit laatste verder te onderzoeken is de aanwezigheid van C4d in nieren van patiënten met FSGS terugkerend na transplantatie en in het MWF ratmodel bepaald, om zo het tijdsbeloop van complementactivatie te bestuderen. Zowel in FSGS terugkerend na transplantatie en in de MWF ratten is C4d al aanwezig voorafgaand aan het optreden van de sclerotische laesies. C4d depositie, en dus complementactivatie, is op zijn vroegst te detecteren ten tijde van het optreden van proteïnurie; schade aan de podocyt is dan al aanwezig. Deze data impliceren dat



complementactivatie al vroeg in het ziekteproces een rol speelt, maar waarschijnlijk na het optreden van initiële podocytschade.

De rol van de endotheelcel bij het ontstaan van FSGS

Zoals in de introductie al is vermeld, wordt FSGS voornamelijk gekenmerkt door podocytschade. Er is echter nog een belangrijke cellulaire component van de filtratie barrière: de glomerulaire endotheelcel. Dit type endotheel is net zoals de podocyt sterk gespecialiseerd. De podocyt en de glomerulaire endotheelcel communiceren met elkaar voor een optimale functie van de filtratiebarrière. Recente studies laten zien dat verstoring van deze communicatie tot ziekte kan leiden. Ook in diermodellen van FSGS is onderzocht of verandering in de communicatie tussen podocyten en endotheelcellen verantwoordelijk is voor het ontstaan van FSGS. Er zijn sterke aanwijzingen dat interactie tussen endotheelcellen en podocyten van groot belang is voor het ontwikkelen van sclerotische laesies. Het molecuul endothelin-1 (ET-1) en zijn receptor endotheline receptor A (ET_AR) lijken hierbij een belangrijke rol te spelen. Het onderzoek in **hoofdstuk 6** heeft als doel om dit mechanisme, wat uit dierstudies naar voren is gekomen, te onderzoeken in patiënten met FSGS. Het onderzoek laat zien dat expressie van ET_AR in verhoogde mate voorkomt in glomerulair endotheel van patiënten met FSGS ten opzichte van gezonde controles. Daarnaast is het geassocieerd met nefrineverlies, zowel in glomeruli met en zonder sclerose. Dit impliceert dat verhoogde ET_AR expressie geassocieerd is met podocytschade. Ook is onderzocht of ET_AR expressie samenhangt met oxidatieve stress. In de eerder genoemde dierstudie lieten de onderzoekers zien dat signalering via ET-1 leidt tot verhoogde niveaus van oxidatieve stress in endotheelcellen, wat vervolgens weer podocytschade medieert. In het onderzoek beschreven in **hoofdstuk 6** van dit proefschrift wordt de marker 8-oxoG gebruikt, een DNA afwijking die door oxidatieve stress wordt veroorzaakt. Er is geen absoluut verschil in 8-oxoG tussen patiënten met FSGS en gezonde controles, maar er lijkt wel een subset van FSGS patiënten te zijn met verhoogde 8-oxoG levels. Deze patiënten hebben meer proteïnurie dan patiënten met lage niveaus van 8-oxoG. Ook toont het onderzoek aan dat verhoogde ET_AR expressie en verhoogde 8-oxoG expressie vaak tegelijkertijd voorkomen in glomeruli van patiënten met FSGS. Deze data suggereren dat ET-1 betrokken is bij de pathogenese van humane FSGS en samenhangt met podocytschade en oxidatieve stress. Dit brengt ons een stap dichterbij een mogelijke therapeutische toepassing. **Hoofdstuk 7** van dit proefschrift beschrijft aanvullend onderzoek naar endotheelschade in FSGS. Dit onderzoek richt zich met name op collapsing FSGS. FSGS laesies kunnen beschreven worden volgens een bepaalde histopathologische indeling: de Columbia Classificatie. De Columbia Classificatie is met name bedoeld als een histopathologische indeling die zich richt op visuele karakteristieken van de verschillende uitingsvormen van

FSGS. Er zijn echter ook klinische associaties verbonden aan de verschillende varianten. Collapsing FSGS wordt met name gekenmerkt door een snel progressief beloop met nierfunctieverlies. Deze variant wordt vaak gezien in patiënten met Humaan immunodeficiëntievirus (HIV)-geïnduceerde nierschade. Verscheidene onderzoeken hebben laten zien dat de collapsing variant veel voorkomt als secundair kenmerk bij nierziekten die veroorzaakt worden door microvasculaire schade, dat wil zeggen: schade aan de kleine vaten van de nier. Data over het voorkomen van microvasculaire schade in de primaire variant van FSGS en andere vormen van FSGS die primair door podocytschade veroorzaakt worden is echter beperkt. In **hoofdstuk 7** wordt het landschap van microvasculaire schade in FSGS beschreven, met speciale aandacht voor het verschil tussen de collapsing variant en de andere varianten van FSGS. Microvasculaire schade wordt bij alle varianten van FSGS gezien, maar is het sterkst geassocieerd met collapsing laesies. Daarnaast wordt de schade zowel in de glomerulus zelf als in de aan- en afvoerende bloedvaten gezien. In samenhang met de eerder genoemde studies die hebben laten zien dat collapsing FSGS vaak ontstaat secundair aan micro-vasculaire aandoeningen, hypothetiseren/veronderstellen we op basis van deze data dat de glomeruli met meer microvasculaire schade eerder geneigd zijn om collapsing FSGS te ontwikkelen dan een andere FSGS variant.

