




Αρτηριακή υπέρταση και επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας στην πολυκυστική νόσο των νεφρών: παθογενετικοί μηχανισμοί πέρα από τις κύστεις

**Μ.Π. Θεοδωρακοπούλου¹
Α. Μπίνας¹**

**Β. Ράπτης¹
Π. Σαραφίδης¹**

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αυτοσωματική επικρατούσα πολυκυστική νόσος των νεφρών (ADPKD) αποτελεί τη συχνότερη νεφρική κληρονομική πάθηση και οφείλεται στην ύπαρξη μεταλλάξεων των γονιδίων PKD1 ή PKD2, τα οποία κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες πολυκυστίνη-1 και πολυκυστίνη-2, αντίστοιχα. Η αρτηριακή υπέρταση και η προοδευτική επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας αποτελούν τις συχνότερες κλινικές εκδηλώσεις της νόσου, ενώ ο σχηματισμός των κύστεων εξακολουθεί να θεωρείται μέχρι σήμερα ο σημαντικότερος παθογενετικός μηχανισμός για την έναρξη αυτών των εκδηλώσεων. Τα τελευταία χρόνια, μελέτες που εξετάζουν τον ρόλο των πολυκυστινών, οι οποίες εντοπίζονται όχι μόνο στους κροσσούς των νεφρικών σωληναριακών κυττάρων αλλά και στα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα, έχουν δείξει ότι επιπρόσθετοι μηχανισμοί, εκτός από τον σχηματισμό των κύστεων, συμβάλλουν σημαντικά στην παθογένεση της νόσου. Οι παθολογικές πολυκυστίνες προκαλούν ανακατανομή του ενδοκυττάρου ασβεστίου, επηρεάζοντας διάφορες κυτταρικές λειτουργίες και οργανύλλια και οδηγούν τελικά σε μία ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων. Συνέπεια όλων αυτών των διαδικασιών είναι η συσσώρευση ασύμμετρης διμεθυλγαργίννης και η ελαττωμένη βιοδιαθεσιμότητα του μονοξειδίου του αζώτου, με τελικό αποτέλεσμα τη χρόνια αγγειοσύσπαση, τη μειωμένη νεφρική αιματική ροή και την αγγειακή αναδιαμόρφωση, που οδηγούν σε περαιτέρω επιδείνωση της νεφρικής βλάβης. Σκοπός της παρούσας ανασκόπησης είναι η σύνοψη των υπάρχοντων δεδομένων σχετικά με τους παθογενετικούς μηχανισμούς της αρτηριακής υπέρτασης και της νεφρικής βλάβης σε ασθενείς με ADPKD.

 **Λέξεις-κλειδιά:** ADMA, ADPKD, αρτηριακή υπέρταση, νεφρική βλάβη, πολυκυστίνες

Εισαγωγή

Η αυτοσωματική επικρατούσα πολυκυστική νόσος των νεφρών (Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease, ADPKD) είναι μία πολυ συστηματική γενετική νόσος και αποτελεί τη συχνότερη κληρονομική νεφρική πάθηση, με την επίπτωση αυτής να εκτιμάται περίπου στις 1/400 έως 1/1.000 γεννή-

σεις¹. Η ADPKD εμφανίζει 100% διεισδυτικότητα και χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση πολλαπλών κύστεων στους νεφρούς, στο ήπαρ, στο πάγκρεας και στην αραχνοειδή μήνιγγα, αλλά η σοβαρότητα των κλινικών εκδηλώσεων ποικίλλει^{1,2}. Περίπου το 85% των ασθενών με ADPKD παρουσιάζει μεταλλάξεις στο γονίδιο PKD1 το οποίο εδράζεται στο

* Η εργασία έχει χρηματοδοτηθεί από την Ελληνική Εταιρεία Υπέρτασης.

¹ Νεφρολογική Κλινική ΑΠΘ, Γενικό Νοσοκομείο «Ιπποκράτειο», Θεσσαλονίκη

✉ **Αλληλογραφία:** Παντελής Α. Σαραφίδης, MD, MSc, PhD, Νεφρολογική Κλινική ΑΠΘ, Γενικό Νοσοκομείο «Ιπποκράτειο», Κωνσταντινουπόλεως 49, Θεσσαλονίκη 54642 • Τηλ./Fax: +30 2313 312930 • E-mail: psarafidis11@yahoo.gr

βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 16 (16p13.3) και κωδικοποιεί την πρωτεΐνη πολυκυστίνη-1 (polycystin-1, PC1), ενώ 15% των ασθενών εμφανίζει μεταλλάξεις στο γονίδιο PKD2 το οποίο βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 4 (4q21) και κωδικοποιεί αντίστοιχα την πρωτεΐνη πολυκυστίνη-2 (polycystin-2, PC2)². Οι πολυκυστίνες είναι πρωτεΐνες που ανήκουν στην υποοικογένεια των καναλιών παροδικού δυναμικού που ελέγχεται από υποδοχείς (transient receptor potential channels)³. Πιο συγκεκριμένα, η πολυκυστίνη-1 είναι διαμεμβρανική πρωτεΐνη με δομή υποδοχέα και διαθέτει ένα εξωκυττάριο αμινο-τελικό τμήμα, το οποίο αλληλεπιδρά με άλλες πρωτεΐνες και μόρια υδατανθράκων, καθώς και ένα διαμεμβρανικό και ένα ενδοκυττάριο καρβοξυτελικό τμήμα, το οποίο αλληλεπιδρά και ρυθμίζει τη δράση της πολυκυστίνης-2, γεγονός που υποδηλώνει ότι οι πολυκυστίνες λειτουργούν ως σύμπλεγμα⁴. Το ενδοκυττάριο τμήμα της πολυκυστίνης-1 έχει ρυθμιστικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό των σωληναριακών κυττάρων και την παραγωγή της θεμέλιας ουσίας μέσω ενεργοποίησης ενδοκυτταρικών οδών στις οποίες περιλαμβάνονται η πρωτεΐνη G (guanine nucleotide-binding), οι πρωτεΐνες Wnt, η κινάση Ιανού (Janus kinase) και άλλοι ενεργοποιητές της μεταγραφικής οδού JAK/STAT⁵. Τέλος, η αλληλεπίδραση του συμπλέγματος πολυκυστίνης-1 / πολυκυστίνης-2 εμπλέκεται στη ρύθμιση του ενδοκυττάριου ασβεστίου μέσω πολλαπλών καναλιών⁴.

Στους νεφρούς, η πολυκυστίνη-1 εντοπίζεται στους κροσσούς των επιθηλιακών σωληναριακών κυττάρων, στην κυτταρική μεμβράνη, στα δεσμοσωμάτια, στους στενοσυνδέσμους και πιθανόν στο ενδοπλασματικό δίκτυο και στον πυρήνα⁶. Αντίστοιχα, η πολυκυστίνη-2 εντοπίζεται στους κροσσούς (cilia) των επιθηλιακών σωληναριακών κυττάρων, στο ενδοπλασματικό δίκτυο, στην κυτταρική μεμβράνη, στα κεντροσωμάτια και στη μιτωτική άτρακτο⁷. Επιπρόσθετα, από προηγούμενες μελέτες σε ανθρώπους και ζώα βρέθηκε ότι οι πολυκυστίνες εκφράζονται σε υψηλό βαθμό και στο καρδιαγγειακό σύστημα⁸⁻¹⁰. Συγκεκριμένα, μελέτες σε ανθρώπινα πρωματικά μοντέλα έδειξαν ότι η πολυκυστίνη-1 βρίσκεται στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα (vascular smooth muscle cells, VSMCs) διαφόρων αρτηριών, συμπεριλαμβανομένων της κοιλιακής και θωρακικής αορτής, των ιγνυακών, νεφρικών, μεσεντέριων αρτηριών και των καρωτίδων¹¹. Η πολυκυστί-

νη-1 εντοπίζεται στις διακυτταρικές συνδέσεις όχι μόνο των επιθηλιακών κυττάρων, αλλά και ενδοθηλιακών αγγειακών κυττάρων¹². Ακόμη, σε μεταγενέστερες μελέτες σε μοντέλο αρουραίου βρέθηκε ότι υπάρχει πολύ ισχυρή έκφραση του γονιδίου PKD1 στην καρδιά, την αορτή καθώς και σε άλλες μικρού και μεγάλου μεγέθους αρτηρίες (στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα) και στο απαγωγό αρτηρίδιο των νεφρικών σπειραμάτων^{13,14}. Έχει ταυτοποιηθεί επίσης ότι οι πολυκυστίνες βρίσκονται στους κροσσούς των ενδοθηλιακών κυττάρων, καθώς είναι απαραίτητες για τη λειτουργία αυτών ως αισθητήρες ροής, σε μία πολύπλοκη κυτταρική διαδικασία που περιλαμβάνει μεσολαβητές όπως το ενδοκυττάριο ασβέστιο, η καλμοντουλίνη και η πρωτεϊνική κινάση C^{9,15-17}.

Είναι γνωστό ότι οι παθολογικές πολυκυστίνες-1 και 2 συμβάλλουν σημαντικά στον σχηματισμό ανευρυσμάτων στην ADPKD, εξαιτίας του ρόλου τους στη διατήρηση των μυοελαστικών ιδιοτήτων του αρτηριακού τοιχώματος¹⁸. Από μελέτες ανοσοφθορισμού ραγέντων ενδοκράνιων ανευρυσμάτων και διαχωριστικών ανευρυσμάτων αορτής σε ασθενείς με ADPKD, έχει βρεθεί ότι υπάρχει αυξημένη έκφραση των πολυκυστινών 1 και 2 στα ατρακτοειδή κύτταρα του αγγειακού τοιχώματος και στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα του μέσου χιτώνα των αρτηριών αυτών¹¹. Επιπλέον, μία μελέτη σε μοντέλο αρουραίου έδειξε ότι ο σχηματισμός νεφρικών κύστεων και ανευρυσμάτων έχει κοινές μοριακές και κυτταρικές οδούς που περιλαμβάνουν την επηρεασμένη λειτουργικότητα των κροσσών του αγγειακού τοιχώματος¹⁹. Έμμεσα στοιχεία που επισημαίνουν τον σημαντικό ρόλο των πολυκυστινών στην ακεραιότητα του αγγειακού τοιχώματος προέρχονται από το γεγονός ότι τα έμβρυα αρουραίων με απενεργοποίηση του PKD1 γονιδίου εμφανίζουν ρήξη των αγγείων και αυξημένη θνησιμότητα κατά τη διάρκεια της κύησης¹⁴. Στο πλαίσιο αυτό, δεν υπάρχουν μέχρι σήμερα αναφορές στη βιβλιογραφία σχετικές με γεννημένους-ζώντες ασθενείς ομόζυγους για μεταλλάξεις απενεργοποίησης ενός εκ των δύο γονιδίων (PKD1 ή PKD2)²⁰. Η μόνη σχετική πληροφορία αφορά μία αναφορά περίπτωσης επαναλαμβανόμενων απωλειών κνήματος κατά το τρίτο τρίμηνο της κύησης από ένα ζευγός ασθενών με μεταλλάξεις του γονιδίου PKD1, όπου η γενετική ανάλυση έδειξε ότι τα νεκρά έμβρυα ήταν ομόζυγα για μετάλλαξη του γονιδίου PKD1²¹. Μελέτες σε μη ορ-

θόλογα μοντέλα αρουραίων με μονή διαγραφή του γονιδίου PKD1 στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα (SM22-Pkd1^{del/del}) ή ταυτόχρονη διαγραφή του γονιδίου στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα και στα ενδοθηλιακά κύτταρα (SM22; Tie2-Pkd1^{del/del}) έδειξαν φυσιολογική απόκριση των αγγείων σε διάφορα αγγειοτονικά ερεθίσματα (KCl, ακετυλοχολίνη, φαινυλεφρίνη κ.ά.), παρά την ισχυρή μείωση των επιπέδων του PKD1 mRNA στα κύτταρα αυτά, υποδηλώνοντας ότι χρειάζονται επιπλέον ερεθίσματα για να προκληθούν ή να επιταχυνθούν αγγειακές μεταβολές²².

Ο μηχανισμός με τον οποίο η ADPKD προκαλεί επιδείνωση της χρόνιας νεφρικής νόσου (XNN) δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως. Η πιο γνωστή θεωρία βασίζεται στην καταστροφή του λειτουργικού νεφρικού παρεγχύματος από την πίεση των νεφρικών κύστεων καθώς αυτές αυξάνουν προοδευτικά σε μέγεθος⁴. Παρ' όλο που πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η χρήση ανταγωνιστών του υποδοχέα βαζοπρεσίνης-2 συμβάλλει στη μείωση του μεγέθους των κύστεων και έχει νεφροπροστατευτικό ρόλο στους ασθενείς με ADPKD^{23,24}, άλλα φαρμακολογικά ή μη φαρμακολογικά μέτρα που αποσκοπούσαν στην ελάττωση του μεγέθους των νεφρικών κύστεων δεν βελτίωσαν τη νεφρική λειτουργία, αλλά ούτε καθυστέρησαν την εξέλιξη της νεφρικής βλάβης²⁵⁻²⁸. Τα παραπάνω ευρήματα μπορούν να επηρεαστούν από διάφορους συγχυτικούς παράγοντες όπως είναι η προχωρημένη και μη αναστρέψιμη καταστροφή του νεφρικού παρεγχύματος, αλλά εξακολουθούν να προτείνουν έμμεσα ότι εκτός από το μέγεθος των κύστεων, επιπρόσθετοι μηχανισμοί συμβάλλουν στην επιδείνωση της νεφρικής βλάβης στους ασθενείς με ADPKD. Μεταξύ των μηχανισμών αυτών συμπεριλαμβάνονται η ενεργοποίηση του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης (ΣΡΑΑ) και του συμπαθητικού νευρικού συστήματος (ΣΝΣ), καθώς και η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία^{1,29,30}. Έτσι, σκοπός αυτού του άρθρου είναι η σύνοψη των υπαρχόντων δεδομένων σχετικά με τους παθογενετικούς μηχανισμούς της αρτηριακής υπέρτασης και της νεφρικής βλάβης σε ασθενείς με ADPKD.

Μηχανισμοί δημιουργίας κύστεων στην ADPKD

Στους ασθενείς με ADPKD, οι κύστες των νεφρών προέρχονται όχι μόνο από τα αθροιστικά, αλλά και από τα εγγύς και τα άπω εσπειραμένα σωληνάκια

και εντοπίζονται τόσο στον νεφρικό φλοιό όσο και στον μυελό. Η κυστογένεση είναι μία εστιακή διαδικασία που παρατηρείται μόλις στο 1%-2% των νεφρώνων³¹. Η εμφάνιση κλινικής νόσου συμβαίνει όταν η έκφραση της πολυκυστίνης-1 από το φυσιολογικό αλληλόμορφο γονίδιο ελαττωθεί κάτω από ένα κρίσιμο επίπεδο^{1,5,32}. Ωστόσο, σε αρουραίους με απενεργοποίηση του ειδικού για το νεφρό γονιδίου της πρωτεΐνης kinesin-like protein A (Kif3a) παρατηρήθηκε ταχεία ανάπτυξη κύστεων στον νεφρικό φλοιό και μυελό μετά από πρόκληση νεφρικής βλάβης εξ ισχαιμίας/επαναιμάτωσης. Οι διαδικασίες της ισχαιμίας και επαναιμάτωσης φαίνεται να διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό και την απόπτωση των κυττάρων, διαδικασίες που είναι απαραίτητες για την κυστογένεση³³. Παρ' όλο που η ADPKD αποτελεί νόσο κληρονομούμενη με τον αυτοσωμικό επικρατούντα χαρακτήρα, η ύπαρξη επιπρόσθετων γεννητικών και περιβαλλοντικών παραγόντων είναι απαραίτητη για την καταστολή της έκφρασης του φυσιολογικού αλληλίου, έτσι ώστε να επιτευχθεί το κατάλληλο «κυστογόνο» κατώφλι^{34,35}. Τα προηγούμενα χρόνια, υπήρχαν δύο διαφορετικές θεωρίες σχετικά με την κυστογένεση. Η πρώτη ισχυρίζεται ότι για την κυστογένεση είναι απαραίτητη η πλήρης απώλεια του φυσιολογικού αλληλίου («θεωρία δύο χτυπημάτων»), ενώ η δεύτερη ότι αρκεί η ελάττωση των επιπέδων της λειτουργικής πρωτεΐνης κάτω από ένα καθορισμένο όριο («θεωρία κατωφλίου»)³⁶. Η πρώτη θεωρία στηρίζεται σε μελέτες σε ζωικά μοντέλα, στις οποίες βρέθηκε ότι η απώλεια του δεύτερου αλληλόμορφου γονιδίου επάγει τη δημιουργία κλωνικών κύστεων (κυστογένεση). Παρ' όλα αυτά, δεδομένα από άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι η χρονική στιγμή που συμβαίνει η σωματική μετάλλαξη επηρεάζει σημαντικά την ανάπτυξη των κύστεων καθώς επίσης και ότι οι κύστες μπορούν να αναπτυχθούν μόνο όταν υπάρχουν χαμηλά επίπεδα πολυκυστίνης-1 (χωρίς μετάλλαξη άλλου αλληλίου), υποδηλώνοντας ότι πιθανά αυτή η θεωρία («θεωρία κατωφλίου») ίσως να εξηγή καλύτερα την παθογένεια της κυστογένεσης στην ADPKD³⁶. Σε μία μελέτη των Takakura et al. σε μοντέλο αρουραίου [PKD1 inducible knockout (IKO)], φάνηκε ότι η απενεργοποίηση του PKD1 γονιδίου έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό κύστεων μόνο μετά από μία περίοδο τοπικής ισχαιμίας-επαναιμάτωσης³⁷. Παρομοίως, σε μία άλλη μελέτη σε αρουραίους με απενεργοποίηση του γονιδίου PKD1, η

νεφροτοξική βλάβη οδήγησε σε αυξημένο πολλαπλασιασμό των σωληναριακών επιθηλιακών κυττάρων και επιτάχυνση του σχηματισμού κύστεων³⁸. Επιπλέον, στους αρουραίους iKsp-Pkd1^{lox,lox}, οι οποίοι αναπτύσσουν ADPKD λόγω εξάλειψης του PKD1 γονιδίου στο 8% των νεφρώνων, η παρουσία νεφρικών κύστεων προκάλεσε αυξημένη μηχανική πίεση στους γειτονικούς νεφρώνες και τελικά αύξησε τη δημιουργία κύστεων στον περιβάλλοντα υγιή νεφρικό ιστό³⁹. Τέλος, σε μία μελέτη σε μοντέλο αρουραίου PKD1-IKO, η αύξηση των κυτταροκινών και των αυξητικών παραγόντων συσχετίστηκε με αυξημένο σχηματισμό νεφρικών κύστεων³⁸. Όλες οι παραπάνω παρατηρήσεις υποδηλώνουν ότι η ύπαρξη παθολογικών και η μειωμένη έκφραση των φυσιολογικών πολυκυστινών οδηγούν στον σχηματισμό των νεφρικών κύστεων στην ADPKD, ενώ η ύπαρξη επιπρόσθετων μηχανισμών όπως είναι η νεφρική βλάβη εξ ισχαιμίας-επαναιμάτωσης ή από άλλους νεφροτοξικούς παράγοντες, το μηχανικό στρες και η φλεγμονή μπορεί να επιδεινώσει τη βλάβη των σωληναριακών επιθηλιακών κυττάρων, να ενεργοποιήσει την κυτταρική απόπτωση και τον αυξημένο πολλαπλασιασμό, επιταχύνοντας την κυστογένεση³⁴.

Οι μοριακοί μηχανισμοί μέσω των οποίων η μείωση της μίας εκ των δύο φυσιολογικών πολυκυστινών κάτω από ένα καθορισμένο όριο οδηγεί στην κυστογένεση και στις διάφορες φαινοτυπικές αλλαγές, δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως. Το παθοφυσιολογικό υπόβαθρο περιλαμβάνει μεταβολές του ενδοκυττάρου ασβεστίου και ενεργοποίηση ποικίλων ενζύμων και κυτταρικών οδών σηματοδότησης, όπως είναι η κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cyclic adenosine monophosphate, cAMP), η τυροσινική κινάση, η οδός Wnt και η οδός του μηχανιστικού υποδοχέα της ραπαμυκίνης (mechanistic target of rapamycin receptor, mTOR)^{1,40}. Το ασβέστιο αποτελεί τον δεύτερο ενδοκυττάριο αγγελιοφόρο των πολυκυστινών και ρυθμίζει πολλές φυσιολογικές διεργασίες σε κυτταρικό επίπεδο⁴¹. Μελέτες έχουν δείξει ότι η μη φυσιολογική δραστηριότητα των πολυκυστινών σχετίζεται με ανακατανομή του ενδοκυττάρου ασβεστίου από το κυτταρόπλασμα στο ενδοπλασματικό δίκτυο, σε άλλα ενδοκυτταρικά οργανύλλια και πιθανώς και στον πυρήνα^{42,43}. Επιπλέον, μελέτες σε ορθόλογα και μη ορθόλογα ζωικά μοντέλα με ADPKD, έδειξαν ότι τα αυξημένα επίπεδα cAMP βρίσκονται όχι μόνο στους νεφρούς,

αλλά επίσης στο ήπαρ, στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα, στο ενδοθήλιο και στο χοριοειδές πλέγμα, ως επακόλουθο του ελαττωμένου ασβεστίου στο κυτταρόπλασμα^{1,44}. Τα ευρήματα αυτά αποτελούν απόδειξη του πολυσυστηματικού χαρακτήρα της νόσου, με τις εκδηλώσεις αυτής να υπερβαίνουν τον σχηματισμό των νεφρικών κύστεων.

Αρτηριακή υπέρταση και χρόνια νεφρική νόσος στην ADPKD

Η αρτηριακή υπέρταση (ΑΥ) είναι συνήθης πρόωμη εκδήλωση της νόσου και μάλιστα στο 60% περίπου των ασθενών με ADPKD εμφανίζεται πριν την επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας⁴⁵. Η ΧΝΝ αποτελεί τη σοβαρότερη κλινική εκδήλωση των ατόμων με ADPKD, με το 30% αυτών να εμφανίζει πρόοδο σε ΧΝΝ σταδίου 3 μετά από μέση παρακολούθηση 8 ετών⁴⁶. Σε γενικές γραμμές, περίπου το 50% των ασθενών με ADPKD εμφανίζει χρόνια νεφρική νόσο τελικού σταδίου (ΤΣ-ΧΝΝ), με χειρότερη πρόγνωση για τους άνδρες^{47,48}. Όπως είναι αναμενόμενο, οι ασθενείς με ADPKD και ΤΣ-ΧΝΝ παρουσιάζουν αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα⁴⁶. Η πρόωμη εμφάνιση ΑΥ έχει συσχετισθεί με πρόωμη εμφάνιση και εξέλιξη της ΧΝΝ. Η ΑΥ είναι συχνότερη και εμφανίζεται προωμότερα σε ασθενείς με μεταλλάξεις στο γονίδιο PKD1^{47,48}. Παρομοίως, η ύπαρξη μεταλλάξεων στο γονίδιο PKD1 σχετίζεται με ταχύτερη εξέλιξη της ΧΝΝ προς το τελικό στάδιο σε σχέση με το γονίδιο PKD2 (η PKD1 οδηγεί σε ΤΣ-ΧΝΝ περί την ηλικία των 58 ετών ενώ η PKD2 στα 79 έτη)^{47,49}.

Οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην παθογένεια της ΑΥ και της επιδείνωσης της νεφρικής βλάβης σε ασθενείς με ADPKD δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως¹. Η επικρατέστερη θεωρία αφορά τον σχηματισμό και την αύξηση του μεγέθους των κύστεων, αλλά αυτή δεν μπορεί να εξηγήσει την ποικιλομορφία των εκδηλώσεων της νόσου όσον αφορά την εμφάνιση ΑΥ και την εξέλιξη της ΧΝΝ⁴. Η μελέτη CRISP (Consortium for Radiologic Imaging Studies of Polycystic Kidney Disease) έδειξε ότι τόσο ο συνολικός όγκος των νεφρών (που επηρεάζεται από το μέγεθος των κύστεων) όσο και η νεφρική αιματική ροή (ως μέτρο αγγειακής αντίστασης) αποτελούν ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες της επιδείνωσης της νεφρικής λειτουργίας, γεγονός που υποδεικνύει την εξαιρετικά σημαντική συμβολή των αγγειακών μεταβολών στην εξέλιξη της νό-

σου^{50,51}. Το παθοφυσιολογικό υπόβαθρο των κλινικών εκδηλώσεων της νόσου είναι πολύπλοκο και περιλαμβάνει την ελάττωση της ενδονεφρικής αιμάτωσης ως αποτέλεσμα της πίεσης των κύστεων με επακόλουθη την ενεργοποίηση του ΣΡΑΑ, αλλά και αποφρακτικά φαινόμενα στα σπειράματα, τα σωληνάκια και τα νεφρικά αγγεία^{1,4}. Επιπλέον, τα κύτταρα που περιλαμβάνονται στον σχηματισμό των κύστεων παράγουν μία σειρά από χημειοκίνες, κυταροκίνες, αγγειογενετικούς παράγοντες [tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), transforming growth factor beta (TGFβ)] και προωθούν την ενσπόρευση κολλαγόνου στον διάμεσο χώρο, καθώς επίσης και την υπερπλασία των μεσαγγειακών κυττάρων, οδηγώντας τελικά σε φλεγμονή και ίνωση του διαμέσου χώρου^{52,53}.

Μηχανισμοί νεφρικής βλάβης στην ADPKD Δεδομένα από παρεμβατικές μελέτες μείωσης μεγέθους των κύστεων

Τα τελευταία χρόνια, λαμβάνοντας υπόψη και το αυξανόμενο πλήθος στοιχείων από μελέτες που αξιολογούν φαρμακολογικές ή χειρουργικές παρεμβάσεις μείωσης μεγέθους των κύστεων, έχει διαμορφωθεί η υπόθεση ότι επιπρόσθετοι εναλλακτικοί μηχανισμοί εκτός των νεφρικών κύστεων πιθανά συμβάλλουν στην εξέλιξη της νεφρικής βλάβης σε ασθενείς με ADPKD. Σε μία μελέτη 30 ασθενών με ADPKD, η χειρουργική αποσυμπίεση με την παροχέτευση των κύστεων δεν σχετίστηκε με βελτίωση της νεφρικής λειτουργίας ή καθυστέρηση εξέλιξης της XNN (μεταβολή κρεατινίνης ορού: $-0,008 \pm 0,001$ και $-0,009 \pm 0,002$ mg/dl/μήνα για τους ασθενείς με φυσιολογική και επηρεασμένη νεφρική λειτουργία αντίστοιχα) μετά από περίοδο παρακολούθησης 21 ± 2 μηνών²⁵. Παρόμοια αποτελέσματα έδειξε μία μεταγενέστερη μελέτη, όπου η χειρουργική αποσυμπίεση δεν βελτίωσε τη νεφρική λειτουργία ή την ΑΥ, παρά μόνο ελαχιστοποίησε τον χρόνιο πόνο που σχετίζεται με τη νόσο²⁸. Στο πλαίσιο αυτό, σε μία διπλά-τυφλή, τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή σε 433 ασθενείς με ADPKD βρέθηκε ότι η θεραπεία με everolimus (αναστολέας mTOR) σχετίζεται με μεγαλύτερη μείωση του μεγέθους των νεφρών συγκριτικά με το εικονικό φάρμακο σε μία περίοδο παρακολούθησης 2 ετών, αλλά ο ρυθμός μείωσης του εκτιμώμενου ρυθμού σπειραματικής διήθησης (estimated glomerular filtration rate, eGFR) δεν

διέφερε μεταξύ των δύο ομάδων της μελέτης (everolimus: $8,9$ έναντι εικονικού φαρμάκου: $7,7$ mL/min/ $1,73$ m², $p=0,15$)⁵⁴. Παρόμοια μη σημαντικά αποτελέσματα όσον αφορά τον ρυθμό μείωσης του eGFR φάνηκαν σε άλλες δύο μελέτες που χρησιμοποιούσαν sirolimus, έναν άλλον αναστολέα mTOR, ενώ τα αποτελέσματα όσον αφορά τη μείωση του όγκου των νεφρών ήταν αντιφατικά^{55,56}. Σε δύο σχετικές μεταanalύσεις βρέθηκε ότι η βραχυπρόθεσμη χορήγηση αναστολέων mTOR έχει ελάχιστη επίδραση στην καθυστέρηση της εξέλιξης της XNN [σταθμισμένη μέση διαφορά eGFR: $-0,97$, $p<0,56$ ²⁶ και $0,24$ mL/min/ $1,73$ m², $p=0,11$ ²⁷, αντίστοιχα], παρά τις σημαντικές μειώσεις στον ολικό όγκο των νεφρών [σταθμισμένη μέση διαφορά ολικού όγκου νεφρών $-318,45$, $p=0,04$ ²⁶ και $-234,74$ mL, $p=0,01$ ²⁷ σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου]. Κάποιοι συγγραφείς προτείνουν ότι τα αποτελέσματα αυτά μπορεί να οφείλονται σε μη αποτελεσματική αναστολή του νεφρικού mTOR υποδοχέα λόγω ανεπαρκούς δοσολογίας⁵⁷. Ωστόσο, σε μια μεταγενέστερη open label κλινική δοκιμή σε 30 ασθενείς με ADPKD, η θεραπεία με χαμηλή δόση sirolimus σχετίστηκε με αύξηση του eGFR μετά από μία περίοδο 12 μηνών ($7,7 \pm 12,5$ έναντι $-11,2 \pm 9,1$ mL/min/ $1,73$ m², $p<0,01$), γεγονός που υποδηλώνει ότι ακόμα και οι χαμηλές δόσεις αναστολέων mTOR θα μπορούσαν να επιτύχουν νεφρικό όφελος⁵⁸. Περαιτέρω έρευνα σχετικά με τη χρήση των αναστολέων mTOR σε ασθενείς με ADPKD είναι απαραίτητη.

Σημαντική εξαίρεση στις προαναφερθείσες παρεμβάσεις αποτελεί η χρήση αποκλειστών των υποδοχέων της βαζοπρεσίνης-2. Στη μελέτη TEMPO 3:4 (Tolvaptan Efficacy and Safety in Management of ADPKD and Its Outcomes) που περιελάμβανε 1.445 ασθενείς με ADPKD, ηλικίας 18-50 ετών με συνολικό όγκο νεφρών >750 mL και eGFR = 60 mL/min/ $1,73$ m², η θεραπεία με tolvaptan είχε ως αποτέλεσμα καθυστέρηση στην ετήσια αύξηση μεγέθους των νεφρών (2,8% έναντι 5,5% ετησίως, $p<0,001$) καθώς και στην επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας (αντίστροφο κρεατινίνης ορού: $-2,61$ mg/mL/έτος έναντι $-3,81$ mg/mL/έτος, $p<0,001$), αλλά συσχετίστηκε με υψηλότερο ποσοστό διακοπής σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (23% έναντι 14%)²³. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στη μελέτη REPRISE (Replicating Evidence of Preserved Renal Function: an Investigation of Tolvaptan Safety and Efficacy in ADPKD) όπου

συμμετείχαν 1.370 ασθενείς με ADPKD (18-55 ετών με eGFR 25-65 mL/min/1,73m² ή 56-65 ετών με eGFR 25-44 mL/min/1,73m²) και στους οποίους η θεραπεία με tolvaptan συσχετίστηκε με καθυστέρηση στην εξέλιξη της νεφρικής βλάβης συγκριτικά με το εικονικό φάρμακο (-2,34 έναντι -3,61 mL/min/1,73m², p<0,001)²⁴. Τα παραπάνω ευρήματα σαφώς υποδηλώνουν ότι η μείωση του όγκου των νεφρών που επιτυγχάνεται με τους αποκλειστές του υποδοχέα βαζοπρεσίνης-2 μπορεί να επιβραδύνει την εξέλιξη της ΧΝΝ στους ασθενείς με ADPKD, αλλά δεν μπορούν να αποκλείσουν ότι πιθανόν να συνυπάρχουν και άλλοι μηχανισμοί, εκτός από το μέγεθος των κύστεων, που συμβάλλουν στην εξέλιξη της νεφρικής βλάβης.

Ο ρόλος του ΣΡΑΑ

Η προοδευτική αύξηση του μεγέθους των νεφρικών κύστεων στην ADPKD προκαλεί μετατόπιση και συμπίεση των αρτηριολίων, με αποτέλεσμα νεφρική ισχαιμία και τελικά την ενεργοποίηση του ΣΡΑΑ⁵⁹. Παρ' όλο που μία μελέτη σε ασθενείς με ADPKD έδειξε ότι δεν υπάρχουν διαφορές στην ενεργοποίηση του ΣΡΑΑ μεταξύ υπερτασικών ασθενών με ADPKD και ασθενών με ιδιοπαθή ΑΥ⁶⁰, η υπερδραστηριότητα του ΣΡΑΑ σε ασθενείς με ADPKD φαίνεται να είναι καλά τεκμηριωμένη. Ιστολογικά ευρήματα νεφρών ασθενών με ADPKD έδειξαν ότι η σκληρία των μεσολοβιδίων και απαγωγών αρτηριδίων, καθώς επίσης και η φλεγμονή και ίνωση του διάμεσου χώρου ήταν παρούσες όχι μόνο σε ασθενείς με ADPKD και προχωρημένη ΧΝΝ ή ΑΥ (όπου ο ρόλος της συστηματικής ενεργοποίησης του ΣΡΑΑ είναι εμφανής), αλλά και σε νορμοτασικούς ασθενείς με ελάχιστες κυστικές εκδηλώσεις⁶¹. Ευρήματα από άλλες μελέτες σε πρωματικά μοντέλα ασθενών με ADPKD έδειξαν υψηλό αριθμό κοκκίων ρενίνης στην παρασπειραματική συσκευή, υψηλά επίπεδα ρενίνης στα σωληνάκια καθώς και υψηλή ενδοκυστική συγκέντρωση ρενίνης^{62,63}. Στις νεφρικές κύστες και τα διατεταμένα νεφρικά σωληνάκια παρατηρείται επίσης αυτόνομη παραγωγή αγγειοτενσινογόνου, ενώ το κυστικό υγρό περιέχει υψηλά επίπεδα αγγειοτενσίνης-2²⁴. Έτσι, έχει προταθεί ότι αυτή η τοπική υπερ-ενεργοποίηση του ΣΡΑΑ έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της αγγειοτενσίνης-2 στα νεφρικά σωληνάκια και συνεπώς την υπέρμετρη επαναρρόφιση νατρίου από αυτά, οδηγώντας τελικά σε αύξηση της ΑΠ και προοδευ-

τική επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας⁶⁵. Επιπρόσθετα, η ενεργοποίηση του ΣΡΑΑ φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της φλεγμονής και ίνωσης του διάμεσου χώρου στους ασθενείς με ADPKD, οδηγώντας σε ταχύτερη εξέλιξη της ΧΝΝ προς το τελικό στάδιο^{65,66}. Παρ' όλο που είναι γνωστός ο ρόλος των αναστολέων του ΣΡΑΑ στις πρωτεϊνουρικές νεφροπάθειες, υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα που να υποδεικνύουν επιπλέον όφελος από τη θεραπεία με αυτούς τους παράγοντες στην ADPKD. Τυχαίοποιημένες κλινικές δοκιμές με σκοπό την αξιολόγηση της επίδρασης των αναστολέων ΣΡΑΑ σε ασθενείς με ADPKD, δεν κατάφεραν να δείξουν σημαντικό όφελος όσον αφορά την επιβράδυνση της νεφρικής νόσου^{67,68}. Παρομοίως, τα αποτελέσματα μιας μετανάλυσης 30 μελετών έδειξαν μη σημαντική βελτίωση των νεφρικών αποτελεσμάτων (όγκος νεφρού, κρεατινίνη ορού, eGFR) από τη χρήση αποκλειστών του ΣΡΑΑ συγκριτικά με το εικονικό φάρμακο ή άλλη φαρμακολογική θεραπεία⁶⁹.

Ο ρόλος του ΣΝΣ

Οι προσαγωγές συμπαθητικές ίνες του νεφρού αποκρίνονται σε μηχανικά (δηλαδή μεταβολές στη νεφρική αιματική ροή και την ενδονεφρική ΑΠ) και χημικά ερεθίσματα (μεταβολίτες ισχαιμίας ή ουραιμικές τοξίνες)⁷⁰. Σε ασθενείς με πολυκυστικούς νεφρούς, καθώς αυξάνεται το μέγεθος των κύστεων, παρατηρείται διάταση της νεφρικής κάψας και συμπίεση των νεφρικών αγγείων, προκαλώντας ενδονεφρική ισχαιμία και διέγερση του ΣΝΣ²⁹. Σε μία πειραματική μελέτη σε μοντέλου αρουραίου (Han: SPRD-Cy/+rats με μετάλλαξη στο γονίδιο Anks6), η αμφοτερόπλευρη νεφρική απονεύρωση είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του μεγέθους και του όγκου των νεφρικών κύστεων, τη μείωση της ΑΠ καθώς και των επιπέδων ουρίας συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου⁷¹. Επιπλέον, όπως παρατηρήθηκε μέσω μικρονευρογραφίας του περνιαίου νεύρου (MSNA), υπάρχει αυξημένη δραστηριότητα του ΣΝΣ σε υπερτασικούς ασθενείς με ADPKD και φυσιολογική νεφρική λειτουργία σε σύγκριση με νορμοτασικούς ασθενείς με ADPKD ή υγιείς μάρτυρες⁷². Σε έναν 26χρονο ασθενή με ADPKD, ανθεκτική ΑΥ και eGFR=100mL/min/1,73m², η νεφρική απονεύρωση συσχετίστηκε με ελάττωση της ΑΠ κατά 15/11 mmHg καθώς και βελτίωση της δραστηριότητας του ΣΝΣ, υποδηλώνοντας ότι η ενεργοποίηση του ΣΝΣ ίσως

αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην ανάπτυξη της ΑΥ στην ADPKD⁷³. Στο ίδιο πλαίσιο, βρέθηκε ότι τα επίπεδα κατεχολαμινών πλάσματος είναι υψηλότερα σε ασθενείς με ADPKD και διατηρημένο eGFR, συγκριτικά με ασθενείς με ιδιοπαθή ΑΥ⁷⁴. Οι κατεχολαμίνες όχι μόνο προκαλούν νεφρική αγγειοσυστολή, αλλά επίσης προωθούν την υπερπλασία των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων και την έκτοπη ανάπτυξη ινοβλαστών στο σπείραμα^{74,75}. Τέλος, μελέτες που αξιολόγησαν τη θεραπεία με α- ή β-αποκλειστές και κεντρικώς δρώντα αντιυπερτασικά σε αρουραίους με μερική νεφρεκτομή έδειξαν ότι η θεραπεία με χαμηλές δόσεις των προαναφερθέντων φαρμάκων σχετίζεται με ανεξάρτητη από τα επίπεδα της ΑΠ ελάττωση της σπειραματοσκληρόνωσης και της αλβουμινουρίας, υποδεικνύοντας έναν πιθανό, ανεξάρτητο από την ΑΠ, ρόλο της υπερδραστικότητας του ΣΝΣ στην εξέλιξη νεφρικής νόσου^{76,77}.

Ο ρόλος του ενδοθηλίου

Η βιοδιαθεσιμότητα του μονοξειδίου του αζώτου (nitric oxide, NO) και η επαγόμενη από NO αγγειοδιαστολή είναι επηρεασμένες σε ασθενείς με ADPKD³⁰. Μελέτες σε μοντέλο αρουραίου με ADPKD (Han: SPRD-Cy/+ rats) έδειξαν μειωμένη έκφραση και δραστηριότητα της νεφρικής ενδοθηλιακής συνθάσης του NO (endothelial NO synthase, eNOs) καθώς και μειωμένα κυκλοφορούντα επίπεδα NO⁷⁸. Σε μία μελέτη ασθενών-μαρτύρων, οι ασθενείς με ADPKD είχαν επηρεασμένη επαγόμενη από NO αγγειοδιαστολή και υψηλότερη καθορισμένη από NO διατημητική τάση των αρτηριδίων αντίστασης σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες, ακόμη και στους ασθενείς με φυσιολογική νεφρική λειτουργία και χωρίς ΑΥ⁷⁹. Επιπλέον, μία άλλη μελέτη σε ασθενείς με ADPKD και διατηρημένη νεφρική λειτουργία έδειξε δυσανάλογη μείωση της εξαρτώμενης από το ενδοθήλιο αγγειοδιαστολής στη βραχιόνιο αρτηρία και αύξηση των ανακλώμενων κυμάτων από την περιφέρεια, γεγονός που πιθανά υποδηλώνει ελαττωμένη αποδέσμευση NO στα μικρά αγγεία^{80,81}. Παρ' όλο που η σχέση μεταξύ ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και νεφρικής βλάβης στην ADPKD φαίνεται να εξαρτάται από τα επίπεδα ΑΠ, η ύπαρξη επιπρόσθετων, ανεξάρτητων από την ΑΠ μηχανισμών φαίνεται να συμβάλει επίσης σε αυτήν. Πιο συγκεκριμένα, η ελαττωμένη βιοδιαθεσιμότητα του NO οδηγεί σε αυξημένη δραστηριότητα των κατεχολαμινών, γεγονός που προάγει τη σπειραματο-

σκληρόνωση λόγω αγγειοσύσπασης, πολλαπλασιασμού των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων και αύξησης των ινοβλαστών στα αγγεία του νεφρού⁸². Με παρόμοιο μηχανισμό, οι μεταβολές στην ισορροπία μεταξύ NO και ενδοθηλίνης οδηγεί σε χρόνια αγγειοσύσπαση, αθηροσκληρόωση και τελικά στη νεφρική ισχαιμία και σπειραματοσκληρόνωση⁵². Επιπλέον, η μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα του NO αυξάνει την έκκριση ρενίνης και τη σύνθεση του TGF-β1 καθώς και την επίδραση άλλων νεφροτοξικών παραγόντων⁸³⁻⁸⁵. Τέλος, όπως αναφέρεται και παρακάτω, η ασύμμετρη-διμεθυλαργινίνη (ADMA) παίζει κύριο ρόλο στην πρόκληση και επιδείνωση της νεφρικής βλάβης⁸⁶.

Σε μία μελέτη σε ετερόζυγους (cy/+) αρουραίους με ADPKD, η χορήγηση του n-nitroarginine-methylester (L-NAME), που αποτελεί αποκλειστή της NO-συνθάσης, οδήγησε σε αύξηση των ενδονεφρικών επιπέδων ενδοθηλίνης-1, μείωση της eNOs στα ενδονεφρικά αγγεία και τα σπειράματα και διακοπή της παραγωγής νεφρικής νευρωνικής συνθάσης NO, με αποτέλεσμα την αγγειοσύσπαση των νεφρικών αγγείων και τελικά τη σημαντική αύξηση της ΑΠ⁸⁷. Σε μία άλλη μελέτη σε μοντέλο αρουραίου με παρόμοιο γονότυπο, οι υψηλές δόσεις L-NAME είχαν ως αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων ΑΠ καθώς και της κρεατινίνης ορού, ανεξάρτητα από την ύπαρξη ή μη νεφρικών κύστεων καθώς και το μέγεθος αυτών⁸⁸. Η χορήγηση αναστολέων της NO-συνθάσης (ADMA και L-NAME) σε πειραματικές μελέτες σε αρουραίους με ετερόπλευρη νεφρεκτομή οδήγησε σε αύξηση του ενδονεφρικού οξειδωτικού στρες, της αρτηριακής σκληρίας και της σπειραματικής ίνωσης⁸⁹. Επιπλέον, η χορήγηση αναστολέων της NO-συνθάσης βρέθηκε να μειώνει την πυκνότητα των περισωληναριακών τριχοειδών δημιουργώντας συνθήκες χρόνιας υποξίας, οι οποίες αυξάνουν την ενδονεφρική συγκέντρωση του TGF-β1 και την έκφραση των γονιδίων κολλαγόνου τύπου 1 και τελικά προκαλούν διαμεσοσωληναριακή ίνωση^{90,91}. Η επίδραση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στους ασθενείς με ADPKD υποστηρίζεται επίσης από μελέτες που εξετάζουν την προγνωστική αξία διαφόρων γενετικών πολυμορφισμών της eNOs στην εξέλιξη της ΧΝΝ. Η ύπαρξη του πολυμορφισμού του εξονίου Glu298Asp που οδηγεί σε ελαττωμένη σύνθεση NO έχει συσχετισθεί με ταχύτερη εξέλιξη της ΧΝΝ μόνο σε άρρενες ασθενείς με ADPKD και όχι σε αντίστοιχους ασθενείς θη-

λυκού φύλου, πιθανόν λόγω της επαγόμενης από τα οιστρογόνα έκφρασης της eNOs που οδηγεί σε ηπιότερη νεφρική βλάβη⁹²⁻⁹⁴. Τέλος, η ύπαρξη του πολυμορφισμού του ιντρονίου 4 b/a σε ασθενείς με ADPKD σχετίστηκε επίσης με υψηλότερο κίνδυνο εξέλιξης της ΧΝΝ προς το τελικό στάδιο^{92,95,96}.

Το ADMA αποτελεί έναν ενδογενή αποκλειστή της NO-συνθάσης και έναν γνωστό βιοχημικό δείκτη της αθηροσκλήρωσης⁹⁷. Πολλές μελέτες στο παρελθόν έχουν επισημάνει τον ρόλο του ADMA στην ADPKD (Πίνακας 1). Σε μία μελέτη ασθενών-μαρτύρων που περιελάμβανε 44 ασθενείς με ADPKD και ΧΝΝ διαφορετικών σταδίων και 16 υγιείς μάρτυρες, βρέθηκε ότι τα επίπεδα ADMA ορού ήταν υψηλότερα στους ασθενείς με ADPKD συγκριτικά με τους μάρτυρες, χωρίς ωστόσο αυτό να σχετίζεται με τη σοβαρότητα της ΧΝΝ⁹⁸. Σε μία μελέτη παρόμοιου σχεδιασμού, 27 νορμοτασικοί ασθενείς με ADPKD και διατηρημένη νεφρική λειτουργία είχαν υψηλότερα επίπεδα ADMA αλλά χαμηλότερα επίπεδα μεταβολιτών NO συγκριτικά με 30 υγιείς μάρτυρες⁹⁹. Επιπλέον, σε μία τρίτη μελέτη σε ασθενείς

με ADPKD και διατηρημένη νεφρική λειτουργία (eGFR > 78 mL/min/1,73m²), αναδείχθηκε μία ανεξάρτητη σχέση μεταξύ των επιπέδων ADMA και της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, εκτιμώμενης μέσω FMD (flow-mediated dilatation)¹⁰⁰. Σε μία σχετική μελέτη της ομάδας μας σε 26 ασθενείς με ADPKD και eGFR < 70 mL/min/1,73m² (Ομάδα 1), 26 αντίστοιχης ηλικίας και φύλου ασθενείς με ADPKD και eGFR > 70 mL/min/1,73m² (Ομάδα 2) και 26 αντίστοιχης ηλικίας και φύλου υγιείς μάρτυρες, βρέθηκε ότι τα επίπεδα ADMA ήταν υψηλότερα στην Ομάδα 2 και ακόμα υψηλότερα στην Ομάδα 1 συγκριτικά με τους μάρτυρες, ενώ παρατηρήθηκε μία σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ ADMA και eGFR (r = -0,460, p < 0,001)¹⁰¹. Τέλος, παρόμοια αποτελέσματα έδειξε μία συγχρονική μελέτη των Klawitter et al., στην οποία φάνηκε ότι οι ασθενείς με ADPKD και eGFR > 60 mL/min/1,73m² είχαν υψηλότερα επίπεδα διαφόρων δεικτών ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (μεταξύ των οποίων και ADMA) σε σύγκριση με υγιή άτομα¹⁰².

Πίνακας 1. Σύνοψη μελετών που αξιολόγησαν τη συσχέτιση μεταξύ αρτηριακής υπέρτασης, οξειδωτικού στρες, επιπέδων ADMA και βιοδιαθεσιμότητας NO σε ασθενείς με ADPKD

Συγγραφείς Έτος δημοσίευσης	Αριθμός ασθενών	Ομάδα ελέγχου	Νεφρική λειτουργία	Αρτηριακή πίεση	Επίπεδα ADMA	Επίπεδα NO ή επαγόμενη μέσω NO αγγειοδιαστολή	Οξειδωτικό στρες
Kielstein JT, et al. 2002	20	Υγιείς	Διαφορετικά στάδια	NT και YT	↑	N/A	N/A
Wang D, et al. 2008	27	Υγιείς	Φυσιολογική	NT	↑	↓	↑
Kocycit I, et al. 2013	91	ADPKD με χαμηλό ουρικό οξύ	Διατηρημένη	NT	Χαμηλό ουρικό οξύ: ↑ Υψηλό ουρικό οξύ: ↑↑	↓ FMD ↓↓ FMD	↑ (έμμεσα)
Raptis V, et al. 2013	72	ADPKD με διατηρημένη νεφρική λειτουργία	Διατηρημένη Μετρώως επηρεασμένη	NT και YT	↑ ↑↑	N/A*	↑ ↑↑
Klawitter J, et al. 2014	110	Υγιείς	Μετρώως επηρεασμένη Σοβαρά επηρεασμένη	YT	↑ ↑↑	N/A**	↑ ↑↑

Συντομεύσεις: ADMA: ασύμμετρη-διμεθυλαργινίνη, N/A: δεν εφαρμόστηκε, NO: μονοξείδιο του αζώτου, NT: νορμοτασικοί, YT: υπεртаσικοί, FMD: flow-mediated dilatation

*έμμεσα: επίπεδα ομοκυστεΐνης

**έμμεσα: επίπεδα ομοκυστεΐνης, μεθειονίνης, S-αδενοϋλομοκυστεΐνης

Ο ρόλος του οξειδωτικού στρες

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, στους ασθενείς με ADPKD, τόσο η βιοδιαθεσιμότητα του NO καθώς και η επαγόμενη από το NO αγγειοδιαστολή είναι σημαντικά επηρεασμένες ενώ τα επίπεδα ADMA ορού είναι υψηλά. Αυτό συμβαίνει προτού παρατηρηθεί σημαντική ελάττωση του GFR και επιδεινώνεται σταδιακά κατά την εξέλιξη της νόσου³⁰. Γενικά, είναι γνωστό ότι οι δείκτες οξειδωτικού στρες αυξάνονται σταδιακά κατά την πρόοδο της ΧΝΝ προς το τελικό στάδιο¹⁰³. Όσον αφορά την ADPKD συγκεκριμένα, δεδομένα από πειραματικές μελέτες σε ζώα και μελέτες παρατήρησης σε ανθρώπους έχουν δείξει ότι το οξειδωτικό στρες είναι ιδιαίτερα αυξημένο¹⁰². Έτσι, μερικοί συγγραφείς υπέθεσαν ότι υπάρχει μία άμεση σχέση μεταξύ του οξειδωτικού στρες και της ελαττωμένης βιοδιαθεσιμότητας και μεταβολισμού του NO, η οποία προάγει περαιτέρω την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και επιδεινώνει τη νεφρική βλάβη στους ασθενείς αυτούς¹⁰¹. Τα επίπεδα ADMA του ορού είναι υψηλής προγνωστικής αξίας για την εξέλιξη της ΧΝΝ και εμφανίζουν ισχυρή συσχέτιση με το οξειδωτικό στρες¹⁰¹. Μελέτες σε μοντέλα μη-ορθολογων ποντικών με προχωρημένη ADPKD έδειξαν υψηλά επίπεδα των δεικτών οξειδωτικού στρες και μειωμένη έκφραση του mRNA αντιοξειδωτικών ενζύμων στους νεφρούς, σε βαθμό ανάλογο με τη σοβαρότητα της νεφρικής δυσλειτουργίας¹⁰⁴⁻¹⁰⁶. Επιπλέον, η ύπαρξη αυξημένου οξειδωτικού στρες έχει παρατηρηθεί σε μελέτες με ασθενείς με ADPKD και διατηρημένη ή ήπια επηρεασμένη νεφρική λειτουργία και είναι στενά συνδεδεμένο με τα επίπεδα ADMA ορού^{30,99,101}. Σε παθοφυσιολογικό επίπεδο, η κύρια μεταβολική οδός για τον καταβολισμό του ADMA είναι μέσω της κιτρουλλίνης και της διμεθυλαμίνης ή μονομεθυλαμίνης, μια αντίδραση που καταλύεται μέσω του ενζύμου διμεθυλαργινίνη-διμεθυλαμινουδρολάση, του οποίου η δραστηριότητα είναι σημαντικά επηρεασμένη σε συνθήκες οξειδωτικού στρες, γεγονός που οδηγεί σε συσσώρευση ADMA⁸⁶. Το οξειδωτικό στρες μπορεί επίσης να αυξήσει την παραγωγή και τον καταβολισμό των αντιδραστικών ριζών οξυγόνου καθώς και να μειώσει την παραγωγή και τη βιοδιαθεσιμότητα του NO στον νεφρό, προκαλώντας τοπική ισχαιμία¹⁰⁷. Αυτή η σύνδεση μεταξύ οξειδωτικού στρες και ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στην ADPKD υποστηρίζεται από ακόμα μία μελέτη σε μοντέλο αρουραίου με μετάλλαξη

στο γονίδιο PKD2, όπου βρέθηκε ότι η εξαρτώμενη από το ενδοθήλιο αγγειοδιαστολή (μετά από ενεργοποίηση με ακετυλοχολίνη) στα μικρά αρτηρίδια είναι επηρεασμένη, ενώ ο βασικός σχηματισμός υπεροξειδίου καθώς και ο επαγόμενος από νιτροπρωσσικό νάτριο σχηματισμός περοξυνιτρίτη στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα είναι αυξημένος³⁰.

Υπόθεση αγγειακής οδού για την αρτηριακή υπέρταση και την εξέλιξη της νεφρικής νόσου στους ασθενείς με ADPKD

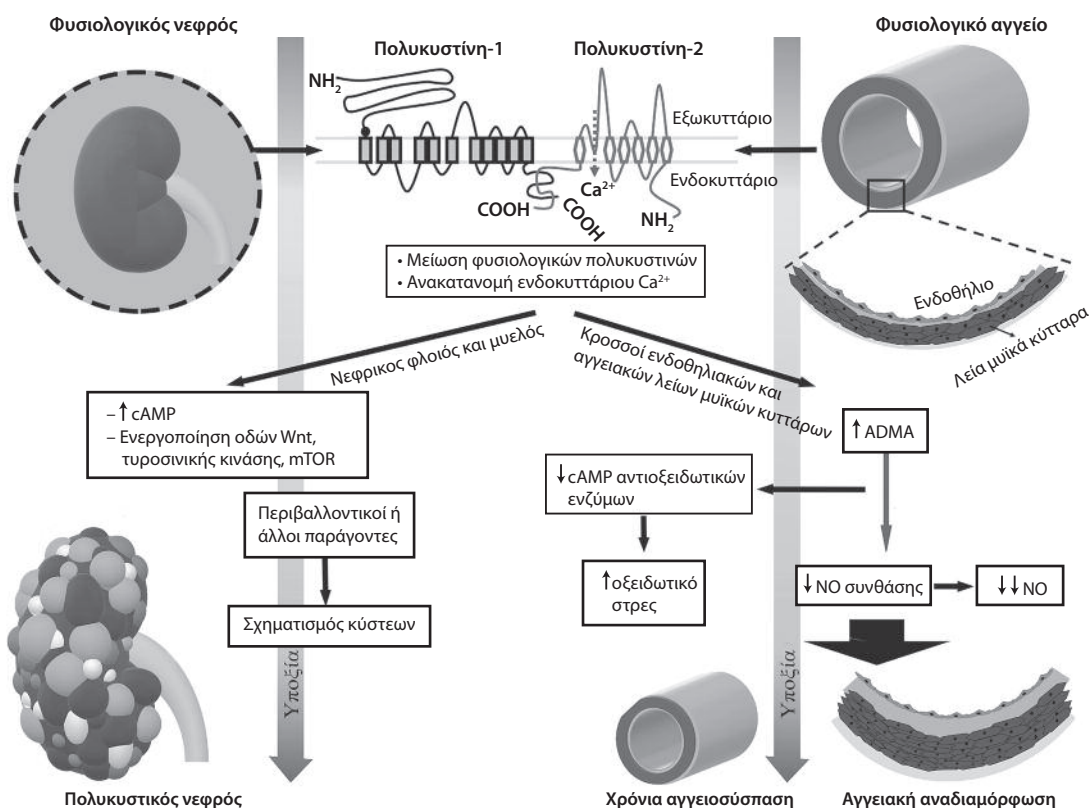
Οι ασθενείς με ADPKD αναπτύσσουν αθηροσκληρωτικές βλάβες στα νεφρικά αγγεία, παρόμοιες με αυτές που αναπτύσσονται σε πειραματικά ζωικά μοντέλα μετά από χορήγηση αναστολέων της NO-συνθάσης^{61,91}. Οι παρατηρήσεις αυτές υποδηλώνουν ότι η χρόνια αγγειοσύσπαση και η αγγειακή αναδιαμόρφωση παίζουν έναν επιπρόσθετο σημαντικό ρόλο στην κυστογένεση και στην επιδείνωση της νεφρικής βλάβης στους ασθενείς με ADPKD. Η υπόθεση αυτή υποστηρίζεται από το γεγονός ότι η μειωμένη νεφρική αιματική ροή (όπως υποδεικνύεται από τις αυξημένες αγγειακές αντιστάσεις) αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την εξέλιξη της νεφρικής νόσου⁵¹. Επιπλέον, στοιχεία που υποστηρίζουν τη συγκεκριμένη υπόθεση προέρχονται από παρεμβατικές μελέτες σε ασθενείς με ADPKD, όπου, παρά την πιθανή ύπαρξη συγχυτικών παραγόντων όπως είναι η προχωρημένη καταστροφή του λειτουργικού νεφρικού παρεγχύματος, η θεραπεία με enoximipus ή και η χειρουργική αποσυμπίεση των κύστεων με παροχέτευση αυτών δεν φάνηκε να επιβραδύνει την εξέλιξη της νεφρικής βλάβης, παρά την ικανοποιητική μείωση του όγκου των νεφρών^{25,54}.

Οι πολυκυστίνες εντοπίζονται τόσο στα επιθηλιακά σωληναριακά κύτταρα, όσο επίσης και στους κροσσούς των ενδοθηλιακών κυττάρων των νεφρικών αγγείων⁹. Έτσι, οι πολυκυστίνες μπορούν επίσης να λειτουργήσουν ως «αισθητήρες ροής» των αγγείων, ικανοί να αντιλαμβάνονται και να ερμηνεύουν τις μεταβολές της ροής του αίματος μέσα στα αγγεία⁹. Είναι γνωστό ότι σε καταστάσεις αυξημένης διατημητικής τάσης των εξωκυτταρίων υγρών, απελευθερώνεται NO από το ενδοθήλιο των αγγείων. Ωστόσο, η πλήρης έλλειψη ή αναστολή της έκφρασης των φυσιολογικών πολυκυστινών σε καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων έχει συσχετισθεί με αδυναμία μετάδοσης της εξωκυτταρικής διατημητικής τάσης στο αντίστοιχο ενδοκυτταρικό σήμα ασβε-

στίου και στη σύνθεση NO¹⁵. Έτσι, θα μπορούσε να υποθεθεί ότι οι «δυσλειτουργικές» πολυκυστίνες, οι οποίες εξορισμού υπάρχουν στην ADPKD, μπορούν να προκαλέσουν μια παθολογική μηχανική και αισθητηριακή απόκριση στις μεταβολές της αγγειακής αιματικής ροής και συνεπώς να οδηγήσουν σε μία ανώμαλη μετάδοση του ενδοκυττάριου σήματος στα ενδοθηλιακά κύτταρα, προκαλώντας αύξηση του ADMA και του οξειδωτικού στρες. Επιπλέον, η ελαττωμένη βιοδιαθεσιμότητα του NO οδηγεί σε περαιτέρω μείωση της νεφρικής αιματικής ροής και σε αγγειακή αναδιαμόρφωση, προάγοντας τελικά την νεφρική ισχαιμία. Η τελευταία μπορεί να λειτουργήσει ως επιπρόσθετος μηχανισμός που συμβάλλει στην διαδικασία της απόπτωσης, στην αύξηση του πολλαπλασιασμού και της παραγωγής θεμέλιας ουσίας με τελικό αποτέλεσμα τον σχηματισμό των κύστεων.

Έτσι, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 1, είναι πιθανό οι παθολογικές πολυκυστίνες να έχουν διπλό

ρόλο στην παθογένεση της ADPKD. Αφενός, επάγουν τον σχηματισμό των κύστεων στον νεφρικό φλοιό και μυελό μέσω ενός «κυστογόνου» μοντέλου κατωφλίου, το οποίο περιλαμβάνει απενεργοποιημένα αλληλία ή αλληλία με ατελή διεισδυτικότητα, καθώς επίσης και πολλά άλλα μηχανικά, ενδοκρινικά και φλεγμονώδη σήματα που προάγουν τον σχηματισμό κύστεων³⁴⁻³⁶. Αφετέρου, η ύπαρξη των παθολογικών πολυκυστινών οδηγεί στην ενεργοποίηση ποικίλων παθολογικών βιοχημικών αντιδράσεων εντός των ενδοθηλιακών κυττάρων, λόγω ανωμαλιών του ενδοκυττάριου ασβεστίου που επηρεάζουν διάφορα κυτταρικά οργανύλλια και λειτουργίες⁴¹. Το τελευταίο έχει ως αποτέλεσμα μία ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικής και αντιοξειδωτικής ικανότητας των κυττάρων¹⁰⁸, η οποία οδηγεί στη συσσώρευση ADMA. Οι αυξημένες συγκεντρώσεις ADMA συμβάλλουν στην πρόκληση και στην εξέλιξη της νεφρικής βλάβης, ενώ επίσης παρεμβαίνουν στις φυσιολογικές αγγειακές αποκρίσεις λόγω



Εικόνα 1. Ο διπλός ρόλος των παθολογικών πολυκυστινών στην ADPKD. Από τη μία, η μείωση των επιπέδων των φυσιολογικών πολυκυστινών και η ανακατανομή του ενδοκυττάριου ασβεστίου προάγει την ενεργοποίηση πολλαπλών ενδοκυττάριων οδών με τελικό αποτέλεσμα τον σχηματισμό των νεφρικών κύστεων. Από την άλλη, η μείωση των φυσιολογικών πολυκυστινών στους κροσσούς των ενδοθηλιακών και αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων οδηγεί σε αύξηση του ADMA και του οξειδωτικού στρες και μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του NO, με αποτέλεσμα τη χρόνια αγγειοσύσπαση και ιστική υποξία.

αναστολής του NO^{86,97}. Η αναστολή της NO-συνθάσης και η επακόλουθη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του NO έχουν ως αποτέλεσμα την προαγωγή χρόνιας αγγειοσυσπασξης, μείωσης της νεφρικής αιματικής ροής και αγγειακής αναδιαμόρφωσης. Έτσι, συμπεραίνοντας, κάποιος μπορεί να υποθέσει ότι ο σχηματισμός των νεφρικών κύστεων επιταχύνει την εξέλιξη της ΧΝΝ όχι μόνο μέσω καταστροφής λειτουργικού νεφρικού παρεγχύματος, αλλά και μέσω χρόνιας ισχαιμίας.

SUMMARY

Theodorakopoulou MP, Binias A, Raptis V, Sarafidis P

Hypertension and renal injury progression in autosomal dominant polycystic kidney disease: pathogenetic mechanisms beyond the cysts

Arterial Hypertension 2021; 30: 46-59.

Autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) is the most prevalent inherited kidney disease. It is caused by mutations in PKD1 or PKD2 genes encoding the proteins polycystin-1 and 2, respectively. Hypertension and progressive decline of renal function are among the common clinical manifestations in ADPKD, while cyst formation is still considered the main pathogenic mechanism for the onset of these manifestations. Over the last years, studies investigating the role of primary cilia and polycystins, present not only on the surface of renal tubular cells but also on vascular endothelial cells, have advanced our understanding of the pathogenesis of ADPKD and have shown that mechanisms other than cyst formation also contribute to renal functional decline in this disease. Abnormal polycystins induce intracellular calcium abnormalities, which affect various cellular organelles and functions and possibly lead to an imbalance between oxidant and antioxidant capacity of the endothelial cells. Among the consequences of this process is accumulation of asymmetric dimethylarginine, which not only participates in the induction and progression of renal damage, but also interferes with the normal vascular response due to nitric oxide (NO) inhibition. Reduced NO bioavailability would result in the long-run in relative vasoconstriction, impaired renal blood flow and vascular remodelling. In this review, we summarize the existing evidence for studies supporting that mechanisms other than cyst formation also contribute to the pathogenesis of hypertension and renal function decline in ADPKD.

Key-words: ADMA, ADPKD, hypertension, polycystins, renal injury progression

BIBLIOΓΡΑΦΙΑ

1. Torres VE, Harris PC. Chapter 44: autosomal dominant polycystic kidney disease. In: Floege J, Johnson RJ, Feehally J, eds. *Comprehensive Clinical Nephrology*, 4th ed, Philadelphia: Mosby; 2010: 529-42.
2. Igarashi P, Somlo S. Genetics and pathogenesis of polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2002 Sep; 13(9): 2384-98.
3. Torres VE, Harris PC. Mechanisms of Disease: autosomal dominant and recessive polycystic kidney diseases. *Nat Clin Pract Nephrol* 2006 Jan; 2(1): 40-55; quiz 55.
4. Grantham JJ. Clinical practice. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2008 Oct 2; 359(14): 1477-85.
5. Torres VE, Harris PC. Autosomal dominant polycystic kidney disease: the last 3 years. *Kidney Int* 2009 Jul; 76(2): 149-68.
6. Boca M, D'Amato L, Distefano G, Polishchuk RS, Germino GG, Boletta A. Polycystin-1 induces cell migration by regulating phosphatidylinositol 3-kinase-dependent cytoskeletal rearrangements and GSK3beta-dependent cell mechanical adhesion. *Mol Biol Cell* 2007 Oct; 18(10): 4050-61.
7. Mochizuki T, Wu G, Hayashi T, Xenophontos SL, Veldhuisen B, Saris JJ, et al. PKD2, a gene for polycystic kidney disease that encodes an integral membrane protein. *Science* 1996 May 31; 272(5266): 1339-42.
8. Torres VE, Cai Y, Chen X, Wu GQ, Geng L, Cleghorn KA, et al. Vascular expression of polycystin-2. *J Am Soc Nephrol* 2001 Jan; 12(1): 1-9.
9. AbouAlaiwi WA, Takahashi M, Mell BR, Jones TJ, Ratnam S, Kolb RJ, et al. Ciliary polycystin-2 is a mechanosensitive calcium channel involved in nitric oxide signaling cascades. *Circ Res* 2009 Apr 10; 104(7): 860-9.
10. Lu CJ, Du H, Wu J, Jansen DA, Jordan KL, Xu N, et al. Non-random distribution and sensory functions of primary cilia in vascular smooth muscle cells. *Kidney Blood Press Res* 2008; 31(3): 171-84.
11. Griffin MD, Torres VE, Grande JP, Kumar R. Vascular expression of polycystin. *J Am Soc Nephrol* 1997 Apr; 8(4): 616-26.
12. Peters DJ, van de Wal A, Spruit L, Saris JJ, Breuning MH, Bruijn JA, et al. Cellular localization and tissue distribution of polycystin-1. *J Pathol* 1999 Aug; 188(4): 439-46.
13. Boulter C, Mulroy S, Webb S, Fleming S, Brindle K, Sandford R. Cardiovascular, skeletal, and renal defects in mice with a targeted disruption of the Pkd1 gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 Oct 9; 98(21): 12174-9.
14. Kim K, Drummond I, Ibraghimov-Beskrovnaya O, Klinger K, Arnaout MA. Polycystin 1 is required for the structural integrity of blood vessels. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 Feb 15; 97(4): 1731-6.
15. Nauli SM, Kawanabe Y, Kaminski JJ, Pearce WJ, Ingber DE, Zhou J. Endothelial cilia are fluid shear sensors that regulate calcium signaling and nitric oxide production through polycystin-1. *Circulation* 2008 Mar 4; 117(9): 1161-71.
16. Ong AC, Ward CJ, Butler RJ, Biddolph S, Bowker C, Torra R, et al. Coordinate expression of the autosomal dominant polycystic kidney disease proteins, polycystin-2 and polycystin-1, in normal and cystic tissue. *Am J*

- Pathol* 1999 Jun; 154(6): 1721-9.
17. Chapman AB, Stepniakowski K, Rahbari-Oskoui F. Hypertension in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis* 2010 Mar; 17(2): 153-63.
 18. Rossetti S, Harris PC. The genetics of vascular complications in autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD). *Curr Hypertens Rev* 2013 Feb; 9(1): 37-43.
 19. Aboualaiwi WA, Muntean BS, Ratnam S, Joe B, Liu L, Booth RL, et al. Survivin-induced abnormal ploidy contributes to cystic kidney and aneurysm formation. *Circulation* 2014 Feb 11; 129(6): 660-72.
 20. Garcia-Gonzalez MA, Outeda P, Zhou Q, Zhou F, Menezes LF, Qian F, et al. Pkd1 and Pkd2 are required for normal placental development. *PLoS One* 2010 Sep 16; 5(9).
 21. Paterson AD, Wang KR, Lupea D, St George-Hyslop P, Pei Y. Recurrent fetal loss associated with bilineal inheritance of type 1 autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Kidney Dis*. 2002 Jul; 40(1): 16-20.
 22. Hassane S, Claij N, Jodar M, Dedman A, Lauritzen I, Duprat F, et al. Pkd1-inactivation in vascular smooth muscle cells and adaptation to hypertension. *Lab Invest*. 2011 Jan; 91(1): 24-32.
 23. Torres VE, Chapman AB, Devuyst O, Gansevoort RT, Grantham JJ, Higashihara E, et al. Tolvaptan in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2012 Dec 20; 367(25): 2407-18.
 24. Torres VE, Chapman AB, Devuyst O, Gansevoort RT, Perrone RD, Koch G, et al. Tolvaptan in Later-Stage Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *N Engl J Med* 2017 16; 377(20): 1930-42.
 25. Elzinga LW, Barry JM, Torres VE, Zincke H, Wahner HW, Swan S, et al. Cyst decompression surgery for autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1992 Jan; 2(7): 1219-26.
 26. He Q, Lin C, Ji S, Chen J. Efficacy and safety of mTOR inhibitor therapy in patients with early-stage autosomal dominant polycystic kidney disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Med Sci* 2012 Dec; 344(6): 491-7.
 27. Liu Y-M, Shao YQ, He Q. Sirolimus for treatment of autosomal-dominant polycystic kidney disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Transplant Proc* 2014 Feb; 46(1): 66-74.
 28. Millar M, Tanagho YS, Haseebuddin M, Clayman RV, Bhayani SB, Figenshau RS. Surgical cyst decortication in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Endourol*. 2013 May; 27(5): 528-34.
 29. Riccio E, Esposito G, Franzone A, Imbriaco M, Santangelo M, Pisani A. Renal sympathetic-nerve ablation for uncontrolled hypertension in a patient with single-kidney autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Clin Hypertens* (Greenwich) 2014 May; 16(5): 385-6.
 30. Brookes ZLS, Ruff L, Upadhyay VS, Huang L, Prasad S, Solanky T, et al. Pkd2 mesenteric vessels exhibit a primary defect in endothelium-dependent vasodilatation restored by rosiglitazone. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2013 Jan 1; 304(1): H33-41.
 31. Bastos AP, Onuchic LF. Molecular and cellular pathogenesis of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Braz J Med Biol Res* 2011 Jul; 44(7): 606-17.
 32. Lantinga-van Leeuwen IS, Dauwerse JG, Baelde HJ, Leonhard WN, van de Wal A, Ward CJ, et al. Lowering of Pkd1 expression is sufficient to cause polycystic kidney disease. *Hum Mol Genet* 2004 Dec 15; 13(24): 3069-77.
 33. Patel TV, Mittal BV, Keithi-Reddy SR, Duffield JS, Singh AK. Endothelial activation markers in anemic non-dialysis chronic kidney disease patients. *Nephron Clin Pract* 2008; 110(4): c244-250.
 34. Antignac C, Calvet JP, Germino GG, Grantham JJ, Guay-Woodford LM, Harris PC, et al. The Future of Polycystic Kidney Disease Research—As Seen By the 12 Kaplan Awardees. *J Am Soc Nephrol* 2015 Sep; 26(9): 2081-95.
 35. Reeders ST. Multilocus polycystic disease. *Nat Genet* 1992 Jul; 1(4): 235-7.
 36. Ong ACM, Harris PC. A polycystin-centric view of cyst formation and disease: the polycystins revisited. *Kidney Int* 2015 Oct; 88(4): 699-710.
 37. Takakura A, Contrino L, Zhou X, Bonventre JV, Sun Y, Humphreys BD, et al. Renal injury is a third hit promoting rapid development of adult polycystic kidney disease. *Hum Mol Genet* 2009 Jul 15; 18(14): 2523-31.
 38. Happé H, Leonhard WN, van der Wal A, van de Water B, Lantinga-van Leeuwen IS, Breuning MH, et al. Toxic tubular injury in kidneys from Pkd1-deletion mice accelerates cystogenesis accompanied by dysregulated planar cell polarity and canonical Wnt signaling pathways. *Hum Mol Genet* 2009 Jul 15; 18(14): 2532-42.
 39. Leonhard WN, Zandbergen M, Veraar K, van den Berg S, van der Weerd L, Breuning M, et al. Scattered Deletion of PKD1 in Kidneys Causes a Cystic Snowball Effect and Recapitulates Polycystic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol* 2015 Jun; 26(6): 1322-33.
 40. Chapin HC, Caplan MJ. The cell biology of polycystic kidney disease. *J Cell Biol* 2010 Nov 15; 191(4): 701-10.
 41. Cantiello HF. Regulation of calcium signaling by polycystin-2. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004 Jun; 286(6): F1012-1029.
 42. Miyakawa A, Ibarra C, Malmersjö S, Aperia A, Wiklund P, Uhlén P. Intracellular calcium release modulates polycystin-2 trafficking. *BMC Nephrol* 2013 Feb 11; 14: 34.
 43. Terryn S, Ho A, Beauwens R, Devuyst O. Fluid transport and cystogenesis in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Biochim Biophys Acta* 2011 Oct; 1812(10): 1314-21.
 44. Wang X, Ward CJ, Harris PC, Torres VE. Cyclic nucleotide signaling in polycystic kidney disease. *Kidney Int* 2010 Jan; 77(2): 129-40.
 45. Eder T, Schrier RW. Cardiovascular abnormalities in autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 2009 Apr; 5(4): 221-8.
 46. Chapman AB, Bost JE, Torres VE, Guay-Woodford L, Bae KT, Landsittel D, et al. Kidney volume and functional outcomes in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012 Mar; 7(3): 479-86.
 47. Dicks E, Ravani P, Langman D, Davidson WS, Pei Y, Parfrey PS. Incident renal events and risk factors in autosomal dominant polycystic kidney disease: a population and family-based cohort followed for 22 years. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006 Jul; 1(4): 710-7.
 48. Johnson AM, Gabow PA. Identification of patients with autosomal dominant polycystic kidney disease at highest risk for end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1997 Oct; 8(10): 1560-7.
 49. Cornec-Le Gall E, Audrézet M-P, Chen J-M, Hourmant

- M, Morin M-P, Perrichot R, et al. Type of PKD1 mutation influences renal outcome in ADPKD. *J Am Soc Nephrol* 2013 May; 24(6): 1006-13.
50. Grantham JJ, Chapman AB, Torres VE. Volume progression in autosomal dominant polycystic kidney disease: the major factor determining clinical outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006 Jan; 1(1): 148-57.
51. Torres VE, King BF, Chapman AB, Brummer ME, Bae KT, Glockner JF, et al. Magnetic resonance measurements of renal blood flow and disease progression in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007 Jan; 2(1): 112-20.
52. Norman J. Fibrosis and progression of autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD). *Biochim Biophys Acta* 2011 Oct; 1812(10): 1327-36.
53. Grantham JJ, Mulamalla S, Swenson-Fields KI. Why kidneys fail in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 2011 Aug 23; 7(10): 556-66.
54. Walz G, Budde K, Mannaa M, Nürnberger J, Wanner C, Sommerer C, et al. Everolimus in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2010 Aug 26; 363(9): 830-40.
55. Perico N, Antiga L, Caroli A, Ruggenti P, Fasolini G, Cafaro M, et al. Sirolimus therapy to halt the progression of ADPKD. *J Am Soc Nephrol* 2010 Jun; 21(6): 1031-40.
56. Serra AL, Poster D, Kistler AD, Krauer F, Raina S, Young J, et al. Sirolimus and kidney growth in autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2010 Aug 26; 363(9): 820-9.
57. Novalic Z, van der Wal AM, Leonhard WN, Koehl G, Breuning MH, Geissler EK, et al. Dose-dependent effects of sirolimus on mTOR signaling and polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2012 May; 23(5): 842-53.
58. Braun WE, Schold JD, Stephany BR, Spirko RA, Herts BR. Low-dose rapamycin (sirolimus) effects in autosomal dominant polycystic kidney disease: an open-label randomized controlled pilot study. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014 May; 9(5): 881-8.
59. Chapman AB, Johnson A, Gabow PA, Schrier RW. The renin-angiotensin-aldosterone system and autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 1990 Oct 18; 323(16): 1091-6.
60. Doulton TW, Saggat-Malik AK, He FJ, Carney C, Markandu ND, Sagnella GA, et al. The effect of sodium and angiotensin-converting enzyme inhibition on the classic circulating renin-angiotensin system in autosomal dominant polycystic kidney disease patients. *J Hypertens* 2006 May; 24(5): 939-45.
61. Zeier M, Fehrenbach P, Geberth S, Möhring K, Waldherr R, Ritz E. Renal histology in polycystic kidney disease with incipient and advanced renal failure. *Kidney Int* 1992 Nov; 42(5): 1259-65.
62. Graham PC, Lindop GB. The anatomy of the renin-secreting cell in adult polycystic kidney disease. *Kidney Int* 1988 Jun; 33(6): 1084-90.
63. Torres VE, Donovan KA, Scicli G, Holley KE, Thibodeau SN, Carretero OA, et al. Synthesis of renin by tubulocystic epithelium in autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 1992 Aug; 42(2): 364-73.
64. Loghman-Adham M, Soto CE, Inagami T, Cassis L. The intrarenal renin-angiotensin system in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004 Oct; 287(4): F775-788.
65. Lawson CR, Doulton TW, MacGregor GA. Autosomal dominant polycystic kidney disease: role of the renin-angiotensin system in raised blood pressure in progression of renal and cardiovascular disease. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2006 Sep; 7(3): 139-45.
66. Ramunni A, Saracino A, Esposito T, Saliani MT, Coratelli P. Renal vascular resistance and renin-angiotensin system in the pathogenesis of early hypertension in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Hypertens Res* 2004 Apr; 27(4): 221-5.
67. Schrier RW, Abebe KZ, Perrone RD, Torres VE, Braun WE, Steinman TI, et al. Blood pressure in early autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2014 Dec 11; 371(24): 2255-66.
68. van Dijk MA, Breuning MH, Duiser R, van Es LA, Westendorp RGJ. No effect of enalapril on progression in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2003 Nov; 18(11): 2314-20.
69. Bolognani D, Palmer SC, Ruospo M, Zoccali C, Craig JC, Strippoli GFM. Interventions for preventing the progression of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2015 Jul 14; (7): CD010294.
70. Rahbari-Oskoui F, Williams O, Chapman A. Mechanisms and management of hypertension in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2014 Dec; 29(12): 2194-201.
71. Gattone VH, Siqueira TM, Powell CR, Trambaugh CM, Lingeman JE, Shalhav AL. Contribution of renal innervation to hypertension in rat autosomal dominant polycystic kidney disease. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2008 Aug; 233(8): 952-7.
72. Klein IH, Ligtenberg G, Oey PL, Koomans HA, Blankstijn PJ. Sympathetic activity is increased in polycystic kidney disease and is associated with hypertension. *J Am Soc Nephrol* 2001 Nov; 12(11): 2427-33.
73. Prejbisz A, Kądziała J, Lewandowski J, Florczak E, Zylinska E, Kłopotowski M, et al. Effect of percutaneous renal denervation on blood pressure level and sympathetic activity in a patient with polycystic kidney disease. *Clin Res Cardiol* 2014 Mar; 103(3): 251-3.
74. Cerasola G, Vecchi M, Mulè G, Cottone S, Mangano MT, Andronico G, et al. Sympathetic activity and blood pressure pattern in autosomal dominant polycystic kidney disease hypertensives. *Am J Nephrol* 1998; 18(5): 391-8.
75. Erami C, Zhang H, Ho JG, French DM, Faber JE. Alpha(1)-adrenoceptor stimulation directly induces growth of vascular wall in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002 Oct; 283(4): H1577-1587.
76. Amann K, Rump LC, Simonaviciene A, Oberhauser V, Wessels S, Orth SR, et al. Effects of low dose sympathetic inhibition on glomerulosclerosis and albuminuria in subtotal nephrectomized rats. *J Am Soc Nephrol* 2000 Aug; 11(8): 1469-78.
77. Amann K, Koch A, Hofstetter J, Gross ML, Haas C, Orth SR, et al. Glomerulosclerosis and progression: effect of subantihypertensive doses of alpha and beta blockers. *Kidney Int* 2001 Oct; 60(4): 1309-23.
78. Wang D, Braendstrup O, Larsen S, Horn T, Strandgaard S. The expression and activity of renal nitric oxide synthase and circulating nitric oxide in polycystic kidney disease rats. *APMIS* 2004 Jun; 112(6): 358-68.

79. Wang D, Iversen J, Wilcox CS, Strandgaard S. Endothelial dysfunction and reduced nitric oxide in resistance arteries in autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 2003 Oct; 64(4): 1381-8.
80. Borresen ML, Wang D, Strandgaard S. Pulse wave reflection is amplified in normotensive patients with autosomal-dominant polycystic kidney disease and normal renal function. *Am J Nephrol* 2007; 27(3): 240-6.
81. Heffernan KS, Kuvin JT, Sarnak MJ, Perrone RD, Miskulin DC, Rudym D, et al. Peripheral augmentation index and vascular inflammation in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2011 Aug; 26(8): 2515-21.
82. Blankestijn PJ. Sympathetic hyperactivity in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2004 Jun; 19(6): 1354-7.
83. Li C, Liu J, Saavedra JE, Keefer LK, Waalkes MP. The nitric oxide donor, V-PYRRO/NO, protects against acetaminophen-induced nephrotoxicity in mice. *Toxicology* 2003 Aug 1; 189(3): 173-80.
84. Morrow JD, Zackert WE, Yang JP, Kurhys EH, Callewaert D, Dworski R, et al. Quantification of the major urinary metabolite of 15-F₂t-isoprostane (8-iso-PGF₂α) by a stable isotope dilution mass spectrometric assay. *Anal Biochem* 1999 May 1; 269(2): 326-31.
85. Schnackenberg CG, Tabor BL, Strong MH, Granger JP. Inhibition of intrarenal NO stimulates renin secretion through a macula densa-mediated mechanism. *Am J Physiol* 1997 Mar; 272(3 Pt 2): R879-886.
86. Raptis V, Kapoulas S, Grekas D. Role of asymmetrical dimethylarginine in the progression of renal disease. *Nephrology* (Carlton). 2013 Jan; 18(1): 11-21.
87. Al-Nimri MA, Komers R, Oyama TT, Subramanya AR, Lindsley JN, Anderson S. Endothelial-derived vasoactive mediators in polycystic kidney disease. *Kidney Int* 2003 May; 63(5): 1776-84.
88. Yoshida I, Bengal R, Torres VE. Gender-dependent effect of L-NAME on polycystic kidney disease in Han:SPRD rats. *Am J Kidney Dis* 2000 May; 35(5): 930-6.
89. Mihout F, Shweke N, Bigé N, Jouanneau C, Dussaule J-C, Ronco P, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) induces chronic kidney disease through a mechanism involving collagen and TGF-β1 synthesis. *J Pathol* 2011 Jan; 223(1): 37-45.
90. Ueda S, Yamagishi S, Matsumoto Y, Kaida Y, Fujimi-Hayashida A, Koike K, et al. Involvement of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in glomerular capillary loss and sclerosis in a rat model of chronic kidney disease (CKD). *Life Sci* 2009 Jun 5; 84(23-24): 853-6.
91. Yamada SS, Sasaki AL, Fujihara CK, Malheiros DM, De Nucci G, Zatz R. Effect of salt intake and inhibitor dose on arterial hypertension and renal injury induced by chronic nitric oxide blockade. *Hypertension* 1996 May; 27(5): 1165-72.
92. Persu A, Stoenoiu MS, Messiaen T, Davila S, Robino C, El-Khattabi O, et al. Modifier effect of ENOS in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Hum Mol Genet* 2002 Feb 1; 11(3): 229-41.
93. Stefanakis N, Ziroyiannis P, Trygonis S, Lamnissou K. Modifier effect of the Glu298Asp polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene in autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Nephron Clin Pract* 2008; 110(2): c101-106.
94. Devuyst O, Persu A, Vo-Cong M-T. Autosomal dominant polycystic kidney disease: modifier genes and endothelial dysfunction. *Nephrol Dial Transplant* 2003 Nov; 18(11): 2211-5.
95. Elumalai R, Periasamy S, Ramanathan G, Lakkakula BV. Role of endothelial nitric oxide synthase VNTR (intron 4 a/b) polymorphism on the progression of renal disease in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Renal Inj Prev* 2014; 3(3): 69-73.
96. Xue C, Zhou C-C, Sun L-J, He L-L, Xu C-G, Dai B, et al. Effects of endothelial nitric oxide synthase gene on end stage renal disease progression in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrology* (Carlton, Vic) 2014 Oct; 19(10): 630-7.
97. Kielstein JT, Fliser D. The past, presence and future of ADMA in nephrology. *Nephrol Ther* 2007 Apr; 3(2): 47-54.
98. Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, Frölich JC, Haller H, Ritz E, et al. Marked increase of asymmetric dimethylarginine in patients with incipient primary chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002 Jan; 13(1): 170-6.
99. Wang D, Strandgaard S, Borresen ML, Luo Z, Connors SG, Yan Q, et al. Asymmetric dimethylarginine and lipid peroxidation products in early autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2008 Feb; 51(2): 184-91.
100. Kocyigit I, Yilmaz MI, Orscelik O, Sipahioglu MH, Unal A, Eroglu E, et al. Serum uric acid levels and endothelial dysfunction in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephron Clin Pract* 2013; 123(3-4): 157-64.
101. Raptis V, Georgianos PI, Sarafidis PA, Sioulis A, Makedou K, Makedou A, et al. Elevated asymmetric dimethylarginine is associated with oxidant stress aggravation in patients with early stage autosomal dominant polycystic kidney disease. *Kidney Blood Press Res* 2013; 38(1): 72-82.
102. Klawitter J, Reed-Gitomer BY, McFann K, Pennington A, Klawitter J, Abebe KZ, et al. Endothelial dysfunction and oxidative stress in polycystic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 2014 Dec 1; 307(11): F1198-1206.
103. Karamouzis I, Sarafidis PA, Karamouzis M, Iliadis S, Haidich A-B, Sioulis A, et al. Increase in oxidative stress but not in antioxidant capacity with advancing stages of chronic kidney disease. *Am J Nephrol* 2008; 28(3): 397-404.
104. Iakoubova OA, Dushkin H, Beier DR. Genetic analysis of a quantitative trait in a mouse model of polycystic kidney disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1997 Oct; 156(4 Pt 2): S72-77.
105. Torres VE, Bengal RJ, Litwiller RD, Wilson DM. Aggravation of polycystic kidney disease in Han: SPRD rats by buthionine sulfoximine. *J Am Soc Nephrol* 1997 Aug; 8(8): 1283-91.
106. Maser RL, Vassmer D, Magenheimer BS, Calvet JP. Oxidant stress and reduced antioxidant enzyme protection in polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2002 Apr; 13(4): 991-9.
107. Wilcox CS. Oxidative stress and nitric oxide deficiency in the kidney: a critical link to hypertension? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005 Oct; 289(4): R913-935.
108. Peng T-I, Jou M-J. Oxidative stress caused by mitochondrial calcium overload. *Ann N Y Acad Sci* 2010 Jul; 1201: 183-8.