

Czy badania genetyczne w steroidoopornym zespole nerczycowym są potrzebne?

Iwona OGAREK¹

Dorota DROŹDŹ²

¹Klinika Nefrologii Dziecięcej,
Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie
Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. J.A. Pietrzyk

²Zakład Dializ Katedry Pediatrii
Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii
Collegium Medicum
Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie
Kierownik Zakładu: Prof. dr hab. J.A. Pietrzyk

Słowa kluczowe:

- zespół nerczycowy
- steroidooporność
- dzieci
- genetyka

Key words:

- nephrotic syndrome
- steroid-resistance
- children
- genetic

Zespół nerczycowy (ZN) jest zespołem objawów klinicznych i biochemicznych spowodowanych białkomoczem przekraczającym zdolności kompensacyjne ustroju. W ostatnich latach opisano wiele anomalii genowych odpowiedzialnych za wystąpienie objawów zespołu nerczycowego niereagującego na standardową steroidoterapię. Większość mutacji genowych objawiających się zespołem nerczycowym dotyczy nieprawidłowości elementów strukturalnych błony szczelinowatej i cytoszkieletu podocyta. Badania ostatnich lat wykazały, że mutacje 4 genów - NPHS1, NPHS2, WT1 i LAMB2 - wyjaśniają więcej niż 90 % wszystkich przypadków izolowanego wrodzonego zespołu nerczycowego oraz 2/3 przypadków izolowanego niemowlęcego zespołu nerczycowego w populacji dzieci europejskich. Badania te zmieniają nasze wyobrażenia o barierze filtracyjnej kłębuszka nerkowego powodując, że postrzegamy ją nie jako strukturę statyczną ale dynamiczną. Wyjaśniono, że nefryna, neph1, aktynina, CD2AP i podocyna nie są statycznymi białkami strukturalnymi podocytów i błony szczelinowatej, lecz zachodzą między nimi liczne oddziaływania, a niezakłócony przekaz sygnałów warunkuje utrzymanie szczelności pokładu filtracyjnego. Badania genetyczne w nefrologii dziecięcej powinny stać się zatem standardowym postępowaniem w diagnostyce oporności zespołu nerczycowego na leczenie i/ lub w przypadku pojawienia się objawów choroby poniżej 1 roku życia w poszukiwaniu defektów mikrostruktury kłębuszka nerkowego.

(NEFROL. DIAL. POL. 2010, 14, 197-201)

Are genetic tests needed in steroid resistant nephrotic syndrome?

Praca wykonana w ramach badań statutowych
K/ZDS/001042

Nephrotic syndrome is a set of clinical and biochemical symptoms caused by proteinuria exceeding compensation capacity of the body. Within recent years many gene mutations responsible for symptoms of nephrotic syndrome irresponsive to standard steroid therapy have been described. The majority of gene mutations manifesting themselves in nephrotic syndrome are related to incorrect structural elements of split diaphragm and podocyte cytoskeleton. Recent research has proved that mutation of 4 genes - NPHS1, NPHS2, WT1 and LAMB2 - explains more than 90% of all cases of isolated acquired nephrotic syndrome and 2/3 of cases of isolated infant nephrotic syndrome in the population of European children. The research changes our views on glomerular filtration barrier and make us perceive it as a dynamic structure not a static one. It is shown that nephrin, neph1, actinin, CD2AP and podocin are not static structural proteins of podocytes or of split diaphragm, but there are numerous interactions between them and an undisturbed transmission of signals is the condition of maintaining tightness of filtration barrier. Thus, genetic tests in pediatric nephrology should become a standard procedure in diagnostics of nephrotic syndrome resistance to treatment and/or in case of illness symptoms occurring in children under 1 year old also in searching for defects of glomerular microstructure.

(NEPHROL. DIAL. POL. 2010, 14, 197-201)

Zespół nerczycowy (ZN) jest zespołem objawów klinicznych i biochemicznych spowodowanych białkomoczem przekraczającym zdolności kompensacyjne ustroju. Jest zespołem heterogennym, u podłoża którego leżą zarówno czynniki genetyczne jak i niegenetyczne.

W ostatnich latach opisano wiele anomalii genowych odpowiedzialnych za wystąpienie objawów zespołu nerczycowego niereagującego na standardową steroidoterapię.

Geny te kodują białka biorące udział w rozwoju oraz składające się na podstawową strukturę kłębuszkowych komórek nabłonkowych - podocytów łącznie z ich występującymi i błoną szczelinowatą.

Uwarunkowane genetycznie zespoły nerczycowe histopatologicznie mogą prezentować zmiany o charakterze zmian minimalnych, proliferacji mezangialnej, ogniskowego segmentalnego szkliwienia lub rozległego stwardnienia mezangium i mieć

Adres do korespondencji:

Dr med. Iwona Ogarek
Klinika Nefrologii Dziecięcej
Uniwersytecki Szpital Dziecięcy
30-663 Kraków, ul. Wielicka 265
Tel./Fax: 012 658 11 59
e-mail: iwonaogarek@wp.pl

chrakter dziedziczenia autosomalnego recesywnego, autosomalnego dominującego czy obu tych postaci. Mogą ujawniać się bezpośrednio po urodzeniu lub w pierwszych 3 miesiącach życia jako wrodzony zespół nerczycowy. Objawy ujawniające się między 3 a 12 miesiącem życia klasyfikuje się jako postać niemowlęca zespołu nerczycowego i w tych przypadkach najczęściej przyczyną jest defekt monogenowy (2/3 pacjentów ze steroidoopornym zespołem nerczycowym z manifestacją w pierwszym roku życia ma mutację genową) [13]. U dzieci starszych i dorosłych patogenezą jest najczęściej wieloczynnikowa (infekcyjna czy immunologiczna), ale nie można wykluczyć również defektu genetycznego z późnym początkiem. Genetycznie uwarunkowane formy zespołu nerczycowego mogą występować samodzielnie lub w połączeniu z manifestacją pozanerkową w postaci zespołu objawów przedstawionych w tabeli 1 [39].

Na barierę filtracyjną odpowiedzialną za zatrzymywanie białek składają się komórki śródbłonka naczynowego, błona okienkowa, błona podstawna kłębuszka nerkowego oraz podocyty wraz ze swoimi wypustkami i błoną szczelinową. Podocyty są największymi strukturami komórkowymi w kłębuszku nerkowym. Wyrostki stopowate przylegających do siebie podocytów są odległe od siebie o 25-60 nm i są połączone błoną szpar filtracyjnych.

Uszkodzenie każdego składnika bariery filtracyjnej może powodować białkomocz – od najczęściej niewielkiego w przypadku uszkodzenia błony podstawnej do zwykle masywnego białkomoczu w uszkodzeniu błony szczelinowej. Błony szczelinowe są najważniejszym elementem w funkcjonowaniu bariery filtracyjnej kłębuszka. Są one zakotwiczone w podstawno-bocznym regionie wyrostków stopowatych podocytów i łączą je ze sobą [19]. Zbudowane są z wielu białek, które tworzą funkcjonalny kompleks. Budowę podocyta oraz błon szczelinowych z zaznaczeniem najczęściej opisywanych struktur przedstawia rycina 1.

Większość mutacji genowych objawiających się zespołem nerczycowym dotyczy nieprawidłowości elementów strukturalnych błony szczelinowej i cytoszkieletu podocyta (NPHS1, NPHS2, CD2AP, TRPC6, ACTN4), inne warunkują defekt błony podstawnej kłębuszka (LAMB2, ITGB4), mitochondriów (COQ2), lizosomów (SCARB2), jeszcze inne działają jako czynniki transkrypcyjne niezbędne dla prawidłowego rozwoju czy funkcji podocyta (WT1, LMX1B).

Badania ostatnich lat wykazały, że mutacje 4 genów - NPHS1, NPHS2, WT1 i LAMB2 - wyjaśniają więcej niż 90 % wszystkich przypadków izolowanego wrodzonego zespołu nerczycowego oraz 2/3 przypadków izolowanego niemowlęcego zespołu nerczycowego w populacji dzieci europejskich [13]. Retrospektywne badania ośrodka brukselskiego wykazały w grupie 26 pacjentów z wrodzonym lub steroidoopornym zespołem nerczycowym u 20% mutacje NPHS1, u 20% mutacje NPHS2, u kolejnych 20% mutacje WT1 oraz u 15% mutacje PLCE1 [16].

Mutacje genów kodujących nefrynę i podocynę, głównych białek budujących i wzmacniających błony szczelinowe, były opisane jako pierwsze przyczyny wrodzo-

nego zespołu nerczycowego.

Nefryna jest białkiem przezbłonowym o ciężarze 135 kDa, należącym do nadrodziny immunoglobulin. Jest to białko adhezyjne, swoiste dla podocytów, a jego podstawową funkcją jest formowanie szkieletu błon szczelinowych. Mutację genu nefryny stwierdzono we wrodzonym zespole nerczycowym typu fińskiego dziedziczonym autosomalnie recesywnie [29], który charakteryzuje się dużym białkomoczem, występującym już wewnątrzmacicznie. Badania histologiczne uwidocznia niedojrzałe kłębuszki ze zlewaniem się wyrostków stopowatych podocytów, brak uformowanych błon szczelinowych oraz rzekomo torbielowate poszerzenie cewek proksymalnych [6]. Badania na ludzkich nerkach płodowych wykazały, że przy braku nefryny nie dochodzi do dojrzewania błon szczelinowych [17]. Nefryna ma fragment pozakomórkowy, przezbłonowy i wewnątrzkomórkowy. Fragment pozakomórkowy tworzy sieć homofilowych i heterofilowych połączeń tworzących rusztowanie błon szczelinowych, natomiast fragment wewnątrzkomórkowy oddziałuje z takimi białkami jak CD2AP (*CD2-associated protein*), podocyna i kinazy uczestnicząc w przekazywaniu sygnałów z błon szczelinowych do wnętrza podocytów [23]. Nefryna jest ściśle powiązana z białkami charakterystycznymi dla połączeń międzykomórkowych, takimi jak MAGI-2 (*membrane-associated guanylate kinase inverted 2*), IQGAP1 (IQ motif-containing GTPase-activating protein1), CASK (*calcium/calmodulin-dependent serine protein kinase*), alfa-aktylina, alfa i betaspektryna. Wydaje się, że białka te odgrywają główną rolę w regulacji przepuszczalności błon szczelinowych, zarówno w czasie rozwoju, jak i w dojrzałym kłębuszku [22].

Kolejnym białkiem błon szczelinowych jest podocyna [5]. Podocyna jest integralnym białkiem błonowym o ciężarze 42 kDa i łączy się z cytoplazmatyczną częścią nefryny oraz z dwoma innymi białkami: CD2AP oraz białkiem podobnym do nefryny, Neph1. Podocyna jest potrzebna do utrzymania stabilności tego kompleksu osadzonego w specjalnym obszarze błony komórkowej bogatym w lipidy [17]. Mutacje podocyny są odpowiedzialne za występowanie genetycznie uwarunkowanego zespołu nerczycowego (dziedziczenie autosomalnie recesywne), jak i zdarzającego się sporadycznie [5]. Obraz kliniczny w tych przypadkach wykazuje duże zróżnicowanie, od objawów zespołu nerczycowego pojawiającego się wcześniej po urodzeniu, podobnie jak w przypadku mutacji genu nefryny, do ujawnienia się tych objawów w drugiej dekadzie życia. *Bertelli* i wsp. zaobserwowali pojawianie się ogniskowej i segmentalnej sklerotyzacji kłębuszków po przeszczepie nerki u chorych z mutacją genu podocyny. Wyniki te sugerują istnienie czynnika surowiczego biorącego udział w patogenezie wrodzonego segmentalnego/ogniskowego stwardnienia kłębuszków nerkowych (*focal-segmental glomerulosclerosis* – FSGS) [4]. Mutacja NPHS2 jest jak się szacuje przyczyną 45-55% rodzinnych oraz 8-20% sporadycznych postaci ZN. Ustalono, że sporadyczne zachorowania na FSGS rozwijają się u homozygot z mutacją genu dla podocyny lub u heterozygot z mno-

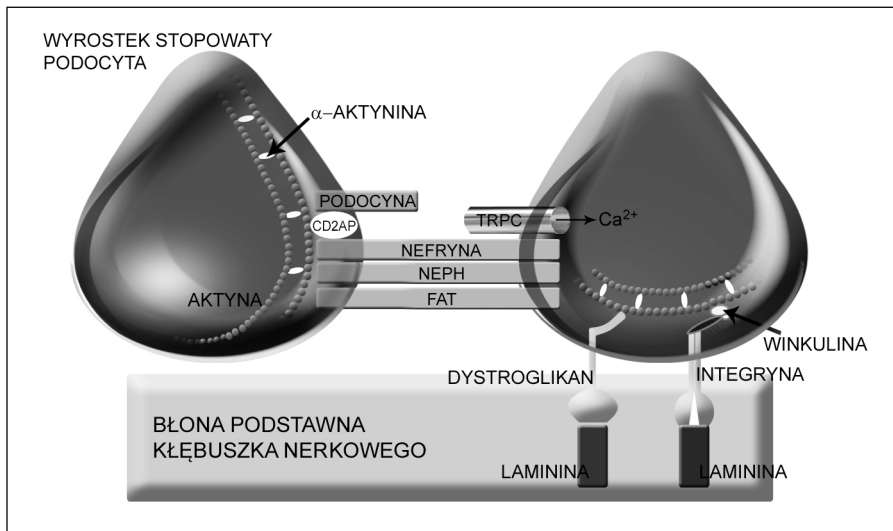
gimi mutacjami. Początek białkomoczu pojawia się zwykle poniżej 14 roku życia.

CD2AP jest białkiem adaptorowym o ciężarze 80 kDa, które oddziałuje z CD2, białkiem przezbłonowym limfocytów T i komórek NK. Składa się z pięciu części: fragmentu N-końcowego, zawierającego miejsce wiążące aktynę, regionu bogatego w prolinę oraz trzech fragmentów zawierających siarkę [37]. CD2AP wykazuje dużą ekspresję we wszystkich tkankach organizmu ludzkiego, w nerkach jest obecne w podocytach, komórkach cewek proksymalnych i kanałków zbiorczych [12]. U myszy brak CD2AP wywołuje postępującą sklerotyzację kłębuszków, która przebiega z białkomoczem i zanikiem wyrostków stopowatych [34]. Wykazano, że myszy pozbawione CD2AP z indukowaną jedynie nerkową ekspresją tego białka, poza niepłodnością, były fenotypowo prawidłowe, co sugeruje największe znaczenie dla przepływu płynów, elektrolitów i białek przez barierę filtracyjną [33].

Nefryna i podocyna należą do białek sygnałowych, przekazujących informacje z zewnątrz komórki do jej wnętrza. Prawdopodobnie właściwe oddziaływanie nefryny z podocyną i CD2AP ma zasadnicze znaczenie dla przepływu płynów, elektrolitów i białek przez barierę filtracyjną [33].

Neph1 jest białkiem, które współdziała z nefryną w formowaniu szkieletu błon szczelinowych. Neph1 należy do rodziny trzech podobnych białek (Neph1, -2, -3). Ma pięć pozakomórkowych fragmentów i fragment wewnątrzkomórkowy, wiążący C-końcowy odcinek podocyny. Zarówno nefryna, jak i Neph1 są substancjami sygnałowymi, które mogą aktywować wewnątrzkomórkowe kinazy [17]. Badania wykazały obecność również Neph2 w obrębie błon szczelinowych oraz interakcje tego białka z fragmentem pozakomórkowym nefryny [16]. Nie zaobserwowano natomiast oddziaływań między Neph1 i Neph2. Ponadto zanotowano obecność Neph2 w moczu osób zdrowych, co sugeruje, że w prawidłowych warunkach białko to jest usuwane.

Kolejnym białkiem należącym do kompleksu błony szczelinowej jest alfa-aktylina 4, która wiąże aktynę [18]. Odgrywa ona ważną rolę zarówno w rozluźnianiu wiązań krzyżowych filamentów aktynowych, powodującym zwiększoną kurczliwość, jak i w formowaniu kompleksu mocującego końce filamentów aktynowych do błony komórkowej podocyta. Poza tym, alfa-aktylina 4 wiąże cytoplazmatyczną część beta-integryny, przez co przyczynia się do przylegania wyrostków stopowatych do błony podstawnej [35]. Mutacje alfa-aktyliny 4 są odpowiedzialne za pojawianie się białkomoczu w rzadkich przypadkach zespołu nerczycowego dziedzicznego autosomalnie dominującego [18]. Kos i wsp. wykazali, że w u myszy brak alfa-aktyliny 4 powoduje zanik wyrostków stopowatych podocytów, ogniskowy u młodych osobników i rozsiany u starszych. Brak alfa-aktyliny 4 ma również bezpośredni wpływ na aktynę cytoszkieletu, powoduje zwiększenie płynności cytoszkieletu, zaburzenie ruchliwości wyrostków stopowatych oraz przylegania komórkowego prowadzące do wytworzenia nieprawidłowych interakcji między podocytami i błoną podstawną [20]. Ostatnie badania podkre-



Rycina 1
Schemat wybranych elementów strukturalnych błony filtracyjnej kłębuszka nerkowego ze szczególnym uwzględnieniem błony szczelinowatej. Schema of selected structural elements of glomerular filtration diaphragm with special attention paid to split diaphragm.

śląją znaczenie wzajemnych oddziaływań między nefryną, podocyną i alfa-aktyniną w prawidłowym funkcjonowaniu błon szczelinowatych.

Ważnym elementem błon szczelinowych jest również kanał jonowy – TRPC6 (*transient receptor potential cation channel, homolog of 6*). TRPC6 należy do rodziny TRP-kationo-selektywnych kanałów jonowych. Podrodzina TRPC obejmuje grupę kanałów kationowych, które są istotne dla wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia w wyniku stymulacji receptorów białka G i kinazy tyrozynowej. Kanały te tworzą homo- i heterotetramery, które mogą oddziaływać z wieloma innymi białkami. Reiser i wsp. wykazali mutacje genu TRPC6 na chromosomie 11 w pięciu rodzinach z autosomalnym dominującym FSGS przebiegającym z białkomoczem i niewydolnością nerek [31]. Powyższe dane wskazują na istotną rolę TRPC6 w utrzymaniu prawidłowej struktury i funkcji podocytów. Istnieją doniesienia mówiące, że mutacje TRPC6 stanowią 3-7% przypadków rodzinnego FSGS o początku w okresie życia dorosłego [30, 40]. Mechanizm prowadzący do uszkodzenia kłębuszka w przebiegu mutacji TRPC6 nie jest do końca jasny. Jedną z hipotez przyjmuje, że zwiększone wewnątrzkomórkowe stężenie wapnia w podocytach może być przyczyną podocytopenii poprzez zwiększenie apoptozy i zmniejszenie proliferacji w okresie rozwoju kłębuszków [24].

W odpowiedzi na wiele substancji wa-
zoaktywnych podocyty reagują zmianami cytoszkieletu i są zdolne do wykonywania ruchów swoimi wypustkami stopowatymi przez co regulują współczynnik ultrafiltracji. Ruch wyrostków stopowatych jest regulowany dzięki obecności w cytoplazmie czterech fosfatyz tyrozynowych oraz kinaz. Ciągła defosforylacja i fosforylacja białek podocytów, szczególnie paksyliny, tensyny, p130CAS, oraz pp125FAK (*focal adhesion kinase*) przez te enzymy zapewnia utrzymanie prawidłowej struktury wyrostków stopowatych i ich przyleganie do błony podstawnej [1].

Podocyty stabilizują także strukturę kłębuszka przeciwstawiając się siłom sprężystości błony podstawnej. Z badań Kriza i wsp. wynika, że komórki mezangialne i podocyty współdziałają w utrzymywaniu prawidłowej struktury kłębuszka, kompensując ubytek funkcji wywołany uszkodzeniem jednego z tych elementów. Uszkodzenie obwodowego odcinka włócniczki prowadzi do kompensacyjnego przyrostu liczby komórek mezangialnych, celem utrzymania kontaktu z błoną podstawną. Obserwuje się jednak wzrost napięcia elementów kurczliwych podocytów w celu utrzymania fizjologicznego układu ciśnień wewnątrz-kłębuszkowych zapewniających prawidłową funkcję filtra kłębuszkowego [21].

B7-1 (CD80) jest białkiem przezbłonowym obecnym na powierzchni limfocytów B oraz innych komórek prezentujących antygen, które działa jako kostymulator limfocytów T przez wiązanie się do jego receptora CD28 i CTLA-4 na limfocytach T. Białko to odgrywa główną rolę w odpowiedzi immunologicznej zależnej od limfocytów T. Przyłączenie się B7-1 do receptora na powierzchni limfocytów T wywołuje przemieszczenie się kinaz białkowych i białek wiążących aktynę do obszaru oddziaływania z komórkami APC. Wytworzenie takich immunologicznych synaps powoduje reorganizację aktyny cytoszkieletu limfocytów T, aktywuje białkową kinazę tyrozynową i kontroluje aktywność Ras- i Rho-family GTPases. Białko CD80 odgrywa ważną rolę w patogenezie wielu chorób zależnych od limfocytów T. Białko to jest niezwykle ważne w indukowaniu licznych modeli eksperymentalnych kłębuszkowych zapaleń nerek (KZN), włączając autoimmunologiczne KZN, nefropatię toczniową, odrzucenie przeszczepu nerki, czy anty-GBM KZN [27].

B7-1 wykazuje ekspresję również w podocytach w chwili zadziałania różnych patogennych czynników, do których można zaliczyć bodźce genetyczne (delecja nefryny lub alfa3 integryny), toksyczne (puromycyna i wolne rodniki tlenowe) oraz immunologiczne (lipopolisacharyd). Lipopolisacharyd

ryd jest najsilniejszym endogennym induktorem ekspresji B7-1 działającym przez TLR-4 receptor. Reiser i wsp. opisali, że podocyty wykazują konstytutywną ekspresję receptora lipopolisacharydu TLR-4 oraz jego koreceptora CD14 i odpowiadają na ekspozycję na lipopolisacharyd przez zwiększenie ekspresji B7-1. Oddziaływanie lipopolisacharydu na TLR-4 w podocytach wywołuje reorganizację aktyny cytoszkieletu i wpływa na organizację błon szczelinowatych, co prowadzi do zlewania się wyrostków stopowatych podocytów i białkomoczu. Powyższe procesy są niezależne od limfocytów T i B i stanowią nową unikatową funkcję B7-1. Reiser i wsp. zaobserwowali zlewanie się wyrostków stopowatych podocytów i wystąpienie znacznego białkomoczu po wstrzyknięciu myszom lipopolisacharydu. Indukcja B7-1 w podocytach przez LPS na skutek pobudzenia receptora TLR sugeruje, że podocyty są nowym elementem wrodzonego systemu immunologicznego, który jest wyposażony w mechanizmy sygnalizujące uszkodzenie (*danger signaling machinery*) [31].

Białkiem pojawiającym się już w bardzo wczesnym stadium rozwoju podocytów jest białko guza *Wilmsa* (WT1, *Wilms' tumour*). Jest ono białkiem hamującym rozwój nowotworów [38]. Mutacje genu WT1 stwierdzono w chorobach rozrostowych, takich jak białaczka, *retinoblastoma*, rak piersi, płuc, a także guz *Wilmsa* [36]. WT1 jest głównym białkiem biorącym udział w różnicowaniu komórek kłębuszka i powstawaniu nerek, co potwierdza zahamowanie rozwoju nerek na poziomie metanefronu u pozbawionych tego białka myszy [2]. We wczesnych stadiach rozwoju kłębuszka WT1 wykazuje ekspresję na wielu komórkach progenitorowych, podczas gdy w dojrzałym kłębuszku jego ekspresja ogranicza się do podocytów. WT1 jest czynnikiem transkrypcji i potranskrypcyjnym, jest niezbędny do utrzymania prawidłowego fenotypu podocytu [26]. WT1 wpływa na ekspresję podokaliksyny i nefryny [36, 28], a także powoduje obniżenie ekspresji Pax2, co powoduje zanik tego białka od stadium pętli naczyniowej [38]. WT1 odgrywa ważną rolę w utrzymaniu prawidłowej czynności podocytu, a w konsekwencji prawidłowej morfologii kłębuszka.

Badania ostatnich lat zmieniają nasze wyobrażenia o barierze filtracyjnej kłębuszka nerkowego powodując, że postrzegamy ją nie jako strukturę statyczną ale dynamiczną. Zarówno złożona z wielu białek błona szczelinowata z nefryną oraz zespół receptorów integrzynowych współuczestniczących w wiązaniu podocytu do kłębuszkowej błony podstawnej mogą ulegać zmianom i prowadzić do zmiany cytoszkieletu podocytu. Opisane procesy mogą odgrywać rolę nie tylko w patogenezie wrodzonych zespołów nerczycowych ale również w postaciach nabytych [39]. Wyjaśniono, że nefryna, neph1, aktylina, CD2AP i podocyna nie są statycznymi białkami strukturalnymi podocytów i błony szczelinowatej, lecz zachodzą między nimi liczne oddziaływania, a niezakłócony przekaz sygnałów warunkuje utrzymanie szczelności pokładu filtracyjnego [3]. Prześledzono, że znajdujący się w podocytach wewnątrzkomórkowy koniec nefryny podlega fosforylacji przez kinazę tyrozyno-

Tabela I
Genetyczne formy zespołu nerczycowego.
Genetic forms of nephrotic syndrome.

Rodzaj ZN	Zmutowany gen	Lokalizacja genu	Białko	Typ dziedziczenia	Zmiany histopatologiczne w nerkach	Początek choroby (lata)	Penetracja nefropatii
Izolowany ZN typu fińskiego	NPHS1	19q13.1	nefryna	AR	MCN	0-0,5	100%
ZN typ 2	NPHS2	1q25-31	podocyna	AR	MCN, FSGS	0-3	100%
ZN typ 3	NPHS3 (PLCE1)	10q23	fosfolipaza c epsilon	AR	DMS, FSGS	0,5-4	prawdopodobnie niekompletna
FSGS	ACTN4 CD2AP TRPC6	19q13 6p12 11q21-22	alfa aktylina4 białko związane z CD2 kanał jonowy	AD AD/AR AD	FSGS	5-40	prawdopodobnie niekompletna
Zespół Denis-Drasha	WT1	11p13	białko WT1	AD	DMS	0,5-4	100%
Zespół Frasiera	WT1	11p13	białko WT1	AD	FSGS	0,5-4	100%
Zespół Piersona	LAMB2	3p21	laminina beta2	AR	FSGS	0-0,5	100%
Zespół Schimkego	SMARCAL1	2q34-q36	SMARCA-like protein	AR	FSGS	0,5-6	100%
Zespół rzepkowo-paznokciowy	LMX1B	9q34.1	LMX1B	AD	FSGS	2-50	40%
Zespół Galloway-Mowat	nieznany		nieznane	AR	DMS, FSGS	0-10	100%
choroby mitochondrialne np MELAS	mtDNA tRNA ^{Leu} tRNA ^{Tyr}		mitochondrialne transferowe RNA	mitochondrialny	FSGS	różnorodny	niska

wą Fyn i u myszy z usuniętym genem *fyn* rozwija się ciężki zespół nerczycowy z zanikiem wypustek stopowatych podocytów. Wykazano, że warunkiem aktywacji przez nefrynę czynnika transkrypcyjnego dla swojej kinazy tyrozynowej jest bezpośrednia interakcja jej cytoplazmatycznych domen i podocyny. Nefryna odgrywa zatem istotną rolę w funkcjonowaniu, przeżyciu i różnicowaniu podocytów. Z drugiej strony opisuje się coraz większą ilość białek niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania nefryny [8, 15]. U podłoża najcięższej postaci morfologicznej FSGS – wariantu zapadniętych pętli naczyńniczych kłębuszka – leży hiperplazja podocytów wskutek zmniejszenia aktywności endogennych inhibitorów kinaz cyklinowych. Zastosowanie syntetycznego inhibitora kinaz cyklinowych (CYC202, roskowityna R) przyniosło wyraźną poprawę histologiczną i kliniczną u myszy, u których wywołano FSGS typu zapadniętych pętli [10].

Rozlane stwardnienie mezangium (diffuse mesangial sclerosis DMS) jest jednym z wariantów histopatologicznych biopsji nerki pacjentów z wrodzonym zespołem nerczycowym. Wchodzi w skład licznych zespołów takich jak *Denys-Drash*, *Galloway-Mowat*, *Pierson*. Fosfolipaza C epsilon będąca enzymem cytoplazmatycznym niezbędnym w procesie dojrzewania podocytów kodowana jest przez gen PLCE1. Mutacje genu PLCE1 były ostatnio opisane jako przyczyna wrodzonego zespołu nerczycowego (NPHS3) będąca główną przyczyną izolowanego DMS [9, 7] potwierdzając hipotezę, że nie tylko strukturalne zaburzenia podocytu ale również jego zaburzenia rozwoju mogą powodować zespół nerczycowy.

Mutacje WT1 odpowiadają natomiast za ok 9% rozpoznań nierodzinnego izolowanego steroidoopornego zespołu nerczycowego i były identyfikowane u pacjentów z izolowanym DMS z klinicznym początkiem między kilkoma dniami a 2 rż oraz w izolowanym FSGS z manifestacją między 1 a 14 rż [32,25].

Zespół nerczycowy uwarunkowany genetycznie był synonimem steroidooporności do czasu odkrycia nowej formy dziedziczącego się autosomalnie recesywnie zespołu nerczycowego typu 3 zwanego NPHS3 w którym uzyskano pozytywną odpowiedź na steroidoterapię związaną najprawdopodobniej z bezpośrednim działaniem steroidów na aktywność fosfolipazy. NPHS3 manifestuje się izolowanym zespołem nerczycowym o ciężkim przebiegu klinicznym ujawniającym się w I roku życia. Nieleczony NPHS3 prowadzi do szybkiej progresji w kierunku schyłkowej niewydolności nerek [14].

Biorąc pod uwagę powyższe okoliczności badania genetyczne w nefrologii dziecięcej powinny stać się standardowym postępowaniem w diagnostyce oporności zespołu nerczycowego na leczenie i/ lub w przypadku pojawienia się objawów choroby po niższej 1 roku życia w poszukiwaniu podejrzanych defektów mikrostruktury kłębuszka nerkowego. Dzięki badaniom genetycznym można między innymi zidentyfikować defekt genów kodujących budowę i czynność podocytów i błony szczelinowatej. W większości przypadków pozwala to wyjaśnić przyczynę wczesnego pojawienia się choroby oraz oporności na leczenie i niepomyślny przebieg choroby. Dzięki temu w niektórych przypadkach pozwala na odstąpienie od wprowadzania toksycznych terapii immunosupresyjnych nie mających w tych przypadkach szans powodzenia i chroni pacjenta przed ewentualnymi powikłaniami jatrogennymi [11].

Steroidooporny zespół nerczycowy jest rzadką chorobą, dlatego też wiedza na temat przyczyn i efektywności leczenia jest ograniczona. We współpracy z 68 ośrodkami nefrologii dziecięcej z 28 krajów powstaje rejestr PodoNet, mający na celu gromadzenie i analizowanie danych o przyczynach i przebiegu choroby dla optymalizacji leczenia i poprawy jakości życia pacjentów

Piśmiennictwo

- Bains R., Furness P.N., Critchley D.R.:** A quantitative immunofluorescence study of glomerular cell adhesion proteins in proteinuric states. *J. Pathol.* 1997, 183, 272.
- Barisoni L., Kriz W., Mundel P. et al.:** The dysregulated podocyte phenotype: a novel concept in the pathogenesis of collapsing idiopathic focal segmental glomerulosclerosis and HIV-associated nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1999, 10, 51.
- Benzing T.:** Signaling at the slit diaphragm. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2004, 15, 1382.
- Bertelli R., Ginevri F., Caridi G. et al.:** Recurrence of focal segmental glomerulosclerosis after renal transplantation in patients with mutations of podocin. *Am. J. Kidney Dis.* 2003, 54, 1314.
- Boute N., Gribouval O., Roselli S. et al.:** NPHS2 encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat. Genet.* 2000, 24, 349.
- Caridi G., Bertelli R., Di Duca M. et al.:** Broadening the spectrum of diseases related to podocin mutations. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003, 14, 1278.
- Caridi G., Trivelli A., Sanna-Cherchi S. et al.:** Familial forms of nephrotic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* 2010, 25, 241.
- Faul C., Asanuma K., Yanagida-Asanuma E. et al.:** Actin up: regulation of podocyte structure and function by components of the actin cytoskeleton. *Trends Cell Biol.* 2007, 17, 428.
- Gbadegesin R., Hinkes B.G., Hoskins B.E. et al.:** Mutations in PLCE1 are a major cause of isolated diffuse mesangial sclerosis (IDMS). *Nephrol. Dial. Transplant.* 2008, 23, 1291.
- Gherardi D., Agati V., Chu T.H.:** Reversal of collapsing glomerulopathy in mice with the cyclin-dependent kinase inhibitor CYC202. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2004, 15, 1212.
- Grenda R.:** Diagnostyka schorzeń nerek i układu moczowego u dzieci i młodzieży - wybrane zagadnienia. *Forum Nefrologiczne.* 2010, 1, 51.
- Grunkemeyer J.A., Kwok C., Huber T.B. et al.:** CD2-associated protein (CD2AP) expression in podocytes rescues lethality of CD2AP deficiency. *J. Biol. Chem.* 2005, 280, 29677.
- Hinkes B.G., Mucha B., Vlangos C.N. et al.:** Nephrotic syndrome in the first year of life: two thirds of cases are caused by mutation in 4 genes (NPHS1, NPHS2, WT1 and LAMB2). *Pediatrics* 2007, 119, 907.

14. **Hinkes B.G.**: NPHS3: new clues for understanding idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* 2008, 23, 847.
15. **Huber T.B., Benzing T.**: The slit diaphragm: a signaling platform to regulate podocyte function. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2005, 14, 211.
16. **Ismaili K., Wissing K., Janssen F., Hall M.**: Genetic forms of nephrotic syndrome: a single-center experience in Brussels. *Pediatr. Nephrol.* 2009, 24, 287.
17. **Jalanko H.**: Pathogenesis of proteinuria: lessons learned from nephrin and podocin. *Pediatr. Nephrol.* 2003, 18, 487.
18. **Kaplan J.M., Kim S.H., North K.M. et al.**: Mutations in ACTN4, encoding alpha-actin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat. Genet.* 2000, 24, 251.
19. **Kerjaschki D.**: Caught flat-footed: podocyte damage and the molecular bases of focal glomerulosclerosis. *J. Clin. Invest.* 2001, 108, 1583.
20. **Kos C.H., Le T.C., Sinha S. et al.**: Mice deficient in alfa-actinin-4 have severe glomerular disease. *J. Clin. Invest.* 2003, 111, 1683.
21. **Kriz W., Hackenthal E., Nobiling R. et al.**: A role for podocytes to counteract capillary wall distension. *Kidney Int.* 1994, 45, 369.
22. **Lehtonen S., Ryan J.J., Kudlicka K. et al.**: Cell junction-associated proteins IQGAP1, MAGI-2, CASK, spectrins, and α -actinin are components of the nephrin multiprotein complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005, 102, 9814.
23. **Liu X.L., Kilpelainen P., Hellman U. et al.**: Characterization of the intractions of the nephrin intracellular domain. Evidence that the scaffolding protein IQGAP1 associates with nephrin. *FEBS J.* 2005, 272, 228.
24. **Moller C.C., Flesche J., Reiser J.**: Sensitizing the Slit Diaphragm with TRPC6 ion channels. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009, 20, 950.
25. **Mucha B., Ozaltin F., Finkes B.G. et al.**: Mutations in the Wilms tumor 1 gene cause isolated steroid resistant nephrotic syndrome and occur in exons 8 and 9. *Pediatr. Res.* 2006, 59, 325.
26. **Mundel P., Kriz W.**: Structure and function of podocytes: an update. *Anat. Embryol.*, 1995, 192, 385.
27. **Odobasic D., Kitching A.R., Semple T.J. et al.**: Glomerular expression of CD80 and CD86 is required for leukocyte accumulation and injury in crescentic glomerulonephritis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005, 16, 2012.
28. **Palmer R.E., Kotsianti A., Cadman B. et al.**: WT1 regulates the expression of the major glomerular podocyte membrane protein podocalyxin. *Curr. Biol.* 2001, 11, 1805.
29. **Pavenstadt H.**: Roles of the podocyte in glomerular function. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2000, 278, 173.
30. **Reiser J., Polu K.R., Moller C.C. et al.**: TRPC6 is a glomerular slit diaphragm-associated channel required for normal renal function. *Nat Genet.* 2005, 37, 739.
31. **Reiser J., von Gersdorff G., Loos M. et al.**: Induction of B7-1 in podocytes is associated with nephrotic syndrome. *J. Clin. Invest.* 2004, 113, 1390.
32. **Schumacher V., Scharer K., Wuhl E. et al.**: Spectrum of early onset nephrotic syndrome associated with WT1 missense mutations. *Kidney Int.*, 1998, 53, 1594.
33. **Schwarz K., Simons M., Reiser J. et al.**: Podocin, a raft associated component of the glomerular slit diaphragm, interacts with CD2AP and nephrin. *J. Clin. Invest.* 2001, 108, 1621.
34. **Shih N.Y., Li J., Karpitskii V., Nguyen A. et al.**: Congenital nephrotic syndrome in mice lacking CD2-associated protein. *Science* 1999, 286, 312.
35. **Smoyer W.E., Mundel P.**: Regulation of podocyte structure during the development of nephrotic syndrome. *J. Mol. Med.* 1998, 76, 172.
36. **Wagner K.D., Wagner N., Schedl A.**: The complex life of WT1. *J. Cell Sci.* 2003, 16, 1653.
37. **Welsch T., Endlich N., Kriz W. et al.**: CD2AP and p130Cas localize to different F-actin structures in podocytes. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2001, 281, 769.
38. **Yang Y., Gubler M.C., Beaufils H.**: Dysregulation of podocyte phenotype in idiopathic collapsing glomerulopathy and HIV-associated nephropathy. *Nephron* 2002, 91, 416.
39. **Zenker M., Machuca E., Antignac C.**: Genetics of nephrotic syndrome: new insights into molecules acting at the glomerular filtration barrier. *J. Mol. Med.* 2009, 87, 849.
40. **Zhu B., Chen N., Wang ZH. et al.**: Identification and functional analysis of a novel TRPC6 mutation associated with late onset familial focal segmental glomerulosclerosis in Chinese patients. *Mutat Res.* 2008, 664, 84.