

ХЕРЕДИТАРНЕ ПОДОЦИТОПАТИЈЕ

Радован БОГДАНОВИЋ

Институт за здравствену заштиту мајке и детета Србије „Др Вукан Чупић“, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ

Висцералне гломеруларне епителне ћелије подоцити су постмитозне ћелије које покривају спољашњу страну гломеруларне базалне мембране. Значајни напреси учињени последњих година, повезани с открићима моногенских оштећења у херeditарним гломеруларним болестима, у први план истичу улогу подоцита у спречавању протеинурије. Упркос томе што су херeditарне протеинуријске болести ретке, генетска, биохемијска и структурна испитивања ових болести значајно су допринела нашим знањима о нормалној функцији гломеруларног филтра и о механизму протеинурије. Ток ових болести може да буде променљив: код неких болесника се испољавају јаком протеинуријом и конгениталним нефротским синдромом, док се код других јављају тек умерена протеинурија и фокално-сегментна гломеруларна склероза. Независно од узрока, болест често напредује у терминалну инсуфицијенцију бубрега. Међу болестима могу да постоје преклапања, па мутације у истом гену могу да се испоље различитим реналним фенотиповима. Важно је да се зна да неке херeditарне подоцитопатије реагују на лечење, али је већина резистентна. Због тога генетска дијагноза, која је на располагању код неких херeditарних подоцитопатија, треба да се уради кад год је то могуће. У овом прегледном раду сабрани су скорашњи напреси у расветљавању генетских узрока гломеруларних болести, уз разматрање њихових импликација за разумевање патогенетских механизма који могу да доведу до поремећаја гломеруларног филтра.

Кључне речи: подоцит; протеинурија; херeditарне болести; гломеруларни филтар

УВОД

Подоцити (од гр. *pous*, ген. *podos* – стопало), ћелије висцералног листа Боуманове (*Bowman*) чауре, стварају завршни – а према данашњем схватању – и кључни део гломеруларног филтра, који спречава губитак протеина плазме урином [1, 2]. То су терминално диференциране ћелије, које по изгледу подсећају на хоботницу: из „тела“ ћелије, које лебди у уринарном простору Боуманове чауре, одвајају се главни продужеци, који се даље гранају до најситнијих огранака, прстастих продужетака (ПП; енгл. *foot processus*), који налазе на спољашњу страну гломеруларних капилара у виду испреплетаних прстију две шаке. Између ПП суседних подоцита налазе се пукотинасти простори ширине 30-40 nm, покривени дијафрагмом процепа или пукотине (ДП; енгл. *slit diaphragm*), модификованом међућелијском спојницом, која је главна препрека за губитак протеина плазме [3]. Високоспецијализована структура и функција подоцита засноване су на цитоскелету богатом актином, од чијих својстава зависи одржавање облика и структуре ПП, а тиме и пропустљивост ДП за макромолекуле [4]. ПП се у функционалном смислу одликују с три мембранска домена, од којих сваки има специфичну молекуларну архитектуру и функцију: базални домен, којим ПП налаже на гломеруларну базалну мембрану (ГБМ), базолатерални или домен међућелијске спојнице (ДП) и апикални домен, изнад ДП (Слика 1) [3, 5].

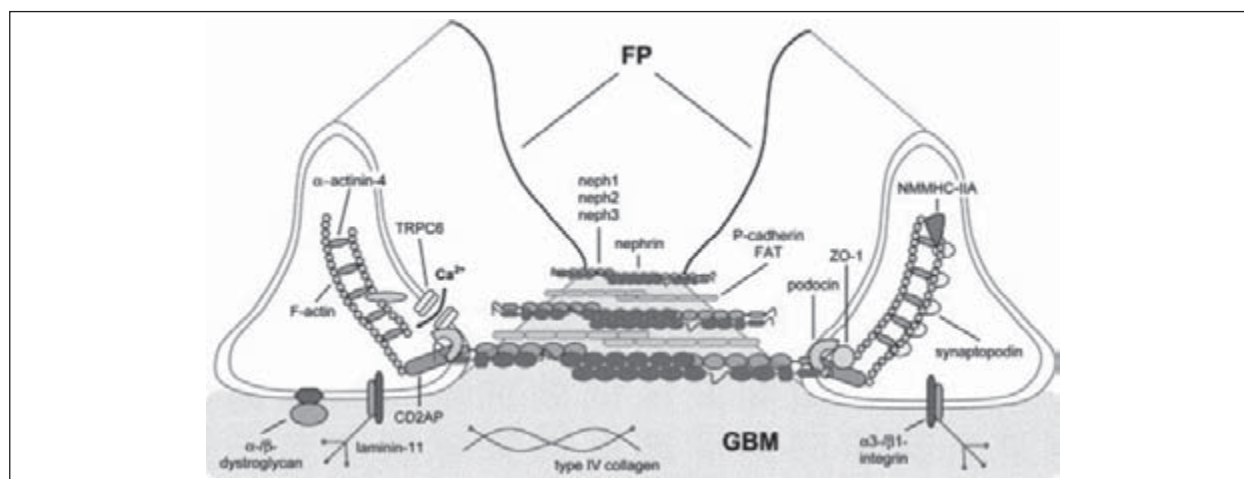
Базалним доменом мембране ПП су „усидрени“ у ГБМ, а физичка веза и пренос сигнала се остварују преко адхезионих молекула, $\alpha 3/\beta 1$ интегрина и α/β дистрогликана, чији су лиганди у ГБМ ламинин 11 ($\alpha 5/\beta 2/\gamma 1$), колаген типа IV, агрин, перлекан и ентактин. Интегрин је у вези с актином преко комплек-

са талин–паксиллин–винкулин, а дистрогликан преко утрофина [3].

Домен ДП је кључно место за одржавање интегритета и функције подоцита, а заправо је комплекс који представља функционалну јединицу састављену од већег броја протеина [1-3, 5, 6]. Сама ДП је сачињена од екстрацитоплазматских делова протеина овог комплекса. Главна компонента комплекса је нефрин, чији се антипаралелно постављени молекули из суседних ПП преклапају на средини ДП. Молекули нефрина се пружају у виду изувијаних нити, остављајући између себе „поре“ величине молекула албумина или мање [7]. Осим потпорне, нефрин има и улогу сигналног молекула. У грађи ДП учествују још и молекули слични нефрину *NEPH1*, *NEPH2* и *NEPH3* (филтрин), потом *FAT1* и *FAT2* (протокадхерини) и *P*-кадхерин. Веза ових трансмембранских молекула с актинским цитоскелетом остварује се преко адапторских унутарћелијских протеина подоцина, *CD2AP* (адапторски протеин првобитно откривен у *CD2* лимфоцитима), *ZO-1* (*zonula occludens*), катенина (α , β , γ) и даље преко синаптоподина, α -актинина, винкулина и талина [3-6]. У тесној вези с нефрином и подоцином је и селективни калцијумски канал *TRPC6* (енгл. *transient receptor potential channel 6*) [8, 9].

Апикални домен мембране ПП, изнад ДП, богат је подокаликсином, чији негативни набој обезбеђује антиадхезиона својства и одржава растојање између ПП и паријеталног листа Боуманове чауре. Веза с актином остварује се помоћу *NHERF-2* (енгл. *sodium-hydrogen exchanger regulatory factor 2*) и езрина [3, 5].

Сва три мембранска домена ПП су физички и функционално повезани с актинским цитоскелетом, чиме се актин доводи у функцију заједничког имениоца не само нормалне, него и поремећене функци-



СЛИКА 1. Приказ прстастих продужетака подоцита и међућелијске спојнице који покривају спољашњу страну базалне мембране гломеруларних капилара [17].

FIGURE 1. Presentation of podocyte foot processes with slit diaphragm covering outer aspect of glomerular basement membrane [17].

GBM – гломеруларна базална мембрана; NMMHC-IIA – тежки ланац немишићног миозина класе IIa; CD2AP – CD2 адапторски протеин; TRPC6 – селективни јонски канал за калцијум; FAT – протокадхерин; FP – прстаста продужетка; ZO-1 – zonula occludens; nephrin – хомолози нефрина

GBM – glomerular basement membrane; NMMHC-IIA – nonmuscle myosin heavy chain class IIa; CD2AP – CD2 adaptor protein; TRPC6 – transient receptor potential channel 6 (selective calcium channel); FAT – protocadherin; FP – foot process; ZO-1 – zonula occludens; nephrin – nephrin homologues

је подоцита [5]. С актином, који се у ПП налази у облику филамената (*F*-актин), тесно су повезани регулациони протеини α -актинин 4, синаптоподин и немишићни миозин II; ова четири протеина чине контрактилни апарат ПП подоцита [4].

Лезије подоцита доводе до различитих структурних промена, од којих је ретракција или фузија ПП најтипичнија: тело подоцита постаје пљоснато и издужено, а ПП се знатно скраћују и шире, уз нестанак нормалног „зглобљавања” између њих [10]. Основ ових промена је дезорганизација цитоскелета и кондензовање актина у виду танке траке дуж ГБМ. Инсерција ДП се помера према апикалном делу и њена функција филтра се губи, што је праћено протеинуријом. Промена може да буде реверзибилна, као у нефротском синдрому с минималним променама (MCNS), или иреверзибилна, с прогресивним појачањем протеинурије и настанком терминалне инсуфицијенције бубрега [11].

Дисфункција подоцита може да буде идиопатска (непознате етиологије), генетска (изазвана мутацијом гена који контролишу синтезу протеина подоцита) и реактивна, која обухвата реакцију подоцита на разнолике инсулте: механичку лезију, токсине, лекове, вирусне инфекције, чиниоце из циркулације (лимфокине и друге протеине), имуне комплексе, акутну исхемију (тромботичка микроангиопатија), метаболичке и друге ноксе [12]. Морфолошке промене удружене с дисфункцијом подоцита испољавају се као веома мале промене, фокално-сегментна гломеруларна склероза (ФСГС), дифузна мезангијска склероза (ДМС) и колапсна гломерулопатија (КГ) [12, 13], које су у тесној вези с начином реаговања подоцита на лезију. Зависно од тога да ли је или не очуван потпуни број функционално способних подоцита, разликују се три начина њиховог реаговања: 1) уз непромење-

ни број, што је одлика MCNS; 2) уз смањење броја подоцита (подоцитопенија) због апоптозе, некрозе или одлуживања од ГБМ, што је одлика ФСГС; и 3) уз промену фенотипа, са дедиференцирањем подоцита и настанком аберантног фенотипа, уз слабије или јаче изражену пролиферацију [12, 13]. У MCNS постоји реверзибилна промена фенотипа, али је број подоцита очуван и они се не налазе у урину [14].

Подоцитопенија (смањење броја подоцита или њихове густине) први је корак у настанку гломерулосклерозе. Наиме, пошто подоцити, као терминално диференциране ћелије, немају способност репликације, њихов губитак преко критичног броја оставља огољеним делове ГБМ. То доводи до стварања синехија и адхезија ГБМ са паријеталним листом Боуманове чауре и, преко низа реакција на погрешно усмерен гломеруларни филтрат, до склерозе гломерула, фиброзе интерстицијума и атрофије тубула [15, 16]. Мутације гена који кодирају кључне протеине подоцита врло често изазивају ФСГС, али није познато да ли она настаје због подоцитопеније или на неки други начин. Дедиференцирање подоцита с појавом аберантног фенотипа, типичног за поједине стадијуме сазревања подоцита током гломерулогенезе, праћено је накупљањем мезангијског матрикса и благом пролиферацијом, што даје морфолошку слику ДМС: хипертрофични подоцити окружују центар који се састоји од матрикса, без формираних капиларних петљи и без ПП. Оваква слика се најчешће виђа код мутација гена који регулишу развој и структуру гломерула: *WT1*, *PLCE1*, *LAMB2*. У финском типу конгениталног нефротског синдрома (КНСФ), изазваном мутацијама гена за нефрин *NPHS1*, гломерули су наизглед нормални, али је ДП мање или више оштећена, што је последица застоја у развоју у стадијуму капиларних петљи [13]. Дедиференцирање подоцита и по-

новни улазак у хелијски циклус доводе до пролиферације јачег степена и слике КГ: ГБМ је набрана, подоцити стварају „полумесеце“, а капилари су колабираног лумена. Ове промене су праћене ненормалностима структуре и функције гломерула, протеинуријом и настанком инсуфицијенције бубрега [12, 13].

Још није усвојена јединствена класификација подоцитопатија (болести изазваних дисфункцијом подоцита). Недавно предложена таксономија заснована је на два критеријума – етиологији и патохистологији, уз додатне елементе [12]. Етиолошке категорије обухватају идиопатске, генетске и реактивне облике, а патохистологија се заснива на фенотипу подоцита и морфологији гломерула. Према овој класификацији, наследне подоцитопатије се у оквиру морфолошких ентитета (MCNS, ФСГС, ДМС, КГ) деле на несиндромске и синдромске [12]. У оптицају су и класификације херeditарних (генетских) подоцитопатија и на основу других критеријума: мутираног гена, локализације и функције генског производа, начина преношења, времена испољавања болести и друге. У даљем разматрању служићемо се поделом наследних подоцитопатија према локализацији, односно функцији генског производа у подоциту [17]. Осврнућемо се, осим тога, на дискриминационе одлике наследних подоцитопатија с раним и касним почетком и на најчешће, засад познате, генетске узроке нефротског синдрома у првој години по рођењу. Уз поједине ентитете биће наведена и искуства Нефролошке службе Института за здравствену заштиту мајке и детета Србије „Др Вукан Чупић“ у Београду која су проистекла из сарадње с лабораторијом проф. др Ф. Хилдебранта из Сједињених Америчких Држава (*F. Hildebrandt, University of Michigan Health System, Pediatric Nephrology, Ann Arbor, MI, USA*). Подоцитопатије и друге наследне гломеруларне болести опширно су разматране у нашој ранијој публикацији [18].

ХЕРЕДИТАРНЕ ПОДОЦИТОПАТИЈЕ СА ПОРЕМЕЋАЈИМА У МЕЂУЋЕЛИЈСКОЈ СПОЈНИЦИ

Фински тип конгениталног нефротског синдрома

Фински тип конгениталног нефротског синдрома (КНСФ; *OMIM 256300*) је најпознатији облик фамилијарног нефротског синдрома. (Под фамилијарним нефротским синдромом се подразумева појава болести с истим патохистолошким налазом код два члана једне породице или више њих.) КНСФ је изазван мутацијама у гену за нефрин (хромозом *19q13.1*) и преноси се аутозомно рецесивно. Његова учесталост је највећа у Финској и износи 1:8.200 живорођене деце, али се болест, мада знатно ређе, јавља код свих раса и етничких група у свету [19].

Јака протеинурија, углавном албуминурија, почиње *in utero*. Оболела деца рађају се пре времена, про-

сечно у 36. недељи гестације, са нижом телесном масом, али нормалном дужином. Плацента тежи више од 25% телесне масе новорођенчета. Едеми постоје већ на рођењу код 25% деце, а код више од 90% појаве се до краја прве недеље. Нефротски синдром се потпуно испољава увек пре навршеног трећег месеца по рођењу. Пре увођења савременог начина лечења, оболела деца су умирала у првих шест месеци од инфекција, дијареје компликоване хидроелектролитним поремећајима или тромбоемболијских компликација. Применом савремених терапијских поступака и мера омогућено је вишегодишње преживљавање, али се терминална инсуфицијенција бубрега развија у узрасту између треће и осме године [19].

Патохистолошке промене су ограничене на кортекс и прогресивне су, почев од местимично дилатираних тубула у бубрегу фетуса до тешких тубулоинтерстицијумских и гломеруларних лезија у првој и другој години. Новија испитивања показују да су основне промене склероза мезангијума и облитерација гломеруларних капилара [20].

Ген за КНСФ назван је *NPHS1* [21]. Састоји се од 29 егзона и кодира трансмембрански протеин нефрин, који се састоји од 1.241 аминокиселине и у бубрегу се експримује искључиво у подоцитима. Досад је описано више од 60 мутација које се фенотипски испољавају као КНСФ, од чега су више од 50% тзв. мисенс мутације. У Финској се код више од 94% болесника налазе две мутације гена *NPHS1*: *Finn-major* (у егзону 2) и *Finn-minor* (у егзону 26) [19]. Мутација *Finn-major* доводи до стварања скраћеног протеина од само 90 аминокиселина. Мутација *Finn-minor* ствара скраћен протеин, али са 1.109 аминокиселина. Мутације гена *NPHS1* су забележене и код оболелих у другим крајевима света и обухватају инсерције, делеције, нонсенс и мисенс мутације, лоциране дуж целог гена, а најчешће су мисенс мутације. Код већине мисенс мутација последица је оштећење у транспорту мутантног нефрина и његова ретенција у ендоплазматском ретикулуму [22]. Овај поремећај се може у неким случајевима кориговати помоћу 4-фенилбутирата, што даје наду за потенцијалну терапију [23].

Клиничка слика код болесника с мутацијама *Finn-major* и *Finn-minor* је иста [24]. Ако болесник није хомозигот или сложени хетерозигот за мутације *Finn-major* и *Finn-minor*, а експримује нефрин и има приказану ДП на налазу електронске микроскопије (ЕМ), може се очекивати да реагује на АСЕ-инхибиторе и индометацин. У супротном, изгледи за терапијски одговор су слаби [24]. Удружене мутације у генима *NPHS1* и *NPHS2* испољавају се блажом клиничком сликом него КНСФ, а на биопсији се налази ФСГС [25]. Спектар клиничких манифестација мутација у гену *NPHS1* проширен је описом фамилијарног нефротског синдрома, односно протеинурије с релапсима и спонтаним ремисијама, уз налаз веома малих промена на биопсији и с очуваном функцијом бубрега у првој деценији живота [26].

Поуздана пренатална дијагноза у породицама с ризиком за КНСФ заснива се на геномској анализи. Анализа гена *NPHS1* из хорионских ресица или ћелија амнионске течности јесте метод избора за постављање прецизне дијагнозе КНСФ [21] и релативно лако и брзо је изводљива када је већ позната мутација у породици. У супротном, када се на КНСФ сумња на основу повећања алфа-фетопротеина (*AFP*), секвенцирање *NPHS1* је такође могуће, али захтева доста времена и резултат може да се добије прекасно. Мерења *AFP* у амнионској течности и у серуму мајке успешно се користе за пренатални скрининг КНСФ у породицама у којима већ постоји дете са КНСФ [19]. Ако се прегледом помоћу ултразвука искључи оштећење неуралне цеви (када такође постоји повећан ниво *AFP*), сматра се да је повећани ниво *AFP* поуздан параметар за постављање дијагнозе КНСФ. Патолошким се сматра повећање концентрације *AFP* које је пет пута веће од медијане код здравих особа. Међутим, ако је фетус хетерозигот за мутацију у *NPHS1*, у првом триместру могу да се забележе нивои *AFP* и до 50 пута већи од медијане, па је разликовање од хомозигота тешко или немогуће. Тек понављаним мерењима нивоа *AFP* у амнионској течности у другом триместру може се доћи до дијагнозе: код хомозигота (оболелих) ниво *AFP* остаје врло висок, док се код хетерозигота значајно смањује [19].

Једини ефикасни поступак који ће довести до „излечења” јесте трансплантација бубрега, а терапијске мере које се пре тога предузимају обухватају задовољење нутриционих потреба, борбу против едема и превенцију и лечење инфекција и тромбоемболијских компликација. Смањење протеинурије може да се постигне унилатералном нефректомијом. Велике дозе *АСЕ*-инхибитора могу да смање протеинурију код болесника који немају мутације *Finn-major* или *Finn-minor*. После трансплантације, рецидив нефротског синдрома се бележи код 20-25% болесника, и то само код оних с мутацијама *Finn-major* [27]. Код неких болесника ремисија нефротског синдрома може да се постигне применом преднизона или преднизона и циклофосамида. Код великог броја деце с рецидивом нефротског синдрома после трансплантације бубрега постоје антитела према нефрину [19, 28].

Треба поменути да се мутације у *NPHS1* не налазе код свих болесника с класичним КНСФ [19]. С друге стране, неке мутације *NPHS1* (посебно *R1160X*, превремено стоп-кодон) налазе се код деце са КНС, који је по рођењу врло тежак, али је доцније клиничка слика блажа [29].

У Институту за здравствену заштиту мајке и детета Србије дијагноза КНСФ постављена је на основу клиничко-патолошких налаза код шесторо деце у периоду 1993-2006. године. Код једног оболелог детета дијагноза је потврђена и геномском анализом, а у истој породици је успешно извршена пренатална дијагноза хетерозиготности фетуса за мутацију откривену код пропозитуса.

Фамилијарни аутозомно рецесивни кортикостероид-резистентни нефротски синдром

Фамилијарни аутозомно рецесивни кортикостероид-резистентни нефротски синдром је најчешће изазван мутацијама у гену за подоцин (*NPHS2*, хромозом *19q25-31*, *ОМIM 607766*). Болест се одликује раним почетком, у просеку између трећег месеца и пете године, брзим развојем у инсуфицијенцију бубрега и изостанком или ниском стопом рецидива у трансплантирани бубрег [30]. У фамилијарном кортикостероид-резистентном нефротском синдрому мутације у гену *NPHS2* бележе се код 45-55% оболеле деце, али се мутације у истом гену откривају и код 8-20% деце са спорадичним кортикостероид-резистентним нефротским синдромом [31-35]. Мутације се јављају у целом гену (осам егзона) и обухватају делеције, мисенс и нонсенс мутације. Релативно често се срећу хетерозиготи за функционалне варијанте још неутврђеног значаја (*P20L*, *A61V*, *L172V*) и за три тзв. *non silent* полиморфизма (*R229Q*, *E237Q*, *A242V*), од којих је најзначајнији *R229Q*. Клинички фенотип се испољава код хомозигота и сложених хетерозигота, код носилаца полиморфизма *R229Q* удруженог с још једном хетерозиготном мутацијом и код још неких хетерозигота [35].

Болест се претежно јавља пре десете године, укључујући и појаву болести у прва три месеца [32]. Ранији почетак болести, обично пре шесте године, удружен је с налазом хомозиготне мутације *R138Q* [33] и мутација које доводе до превременог стоп-кодона [34]. Облик с каснијим почетком, углавном између прве и друге деценије живота, повезан је с чешћим налазом неких хомозиготних мутација (*V180M* и *R238S*) [33] и с удруженошћу полиморфизма *R229Q* са другом хетерозиготном мутацијом [36].

Најчешћа патохистолошка лезија је ФСГС, која је и коначни налаз код свих болесника, мада у првој биопсији могу да се уоче веома мале промене или *IgM* нефропатија [35]. Резистенција на кортикостероиде је правило, а реаговање на друге имunosупресивне лекове је врло ограничено [29, 35]. Развој обољења је прогресиван и терминална инсуфицијенција бубрега наступа најчешће у другој деценији, како у фамилијарном, тако и у спорадичном облику болести [31, 32].

Код хетерозиготних носилаца мутација, било да је реч о болесницима са фамилијарним или са спорадичним обликом болести, протеинурија се јавља у узрасту од неколико месеци до неколико година, реаговање на имуномодулаторне лекове није ретко, али такође постоји тренд ка прогресивном току болести и развоју тежих гломеруларних лезија [31, 32]. Разлог за настанак протеинурије код ових болесника није познат, али се претпоставља да хетерозиготност повећава склоност ка лезији гломерула која је изазвана деловањем екстрареналних чинилаца [35].

Полиморфизам *R229Q* се јавља код 3-4% здравих особа у Западној Европи [31, 33], а код становника

САД повезан је с троструко већим ризиком за наста-нак микроалбуминурије [37]. Клинички фенотип, ка-да постоји, одликује се каснијим почетком протеину-рије и добрим одговором на лечење имуномодулатор-ним лековима [35]. Полиморфизам *R229Q* доводи до слабијег везивања нефрина за подоцин, што значи да *R229Q* није неутрална варијанта и објашњава појаву клиничког фенотипа у случају удружености *R229Q* с неком хетерозиготном мутацијом [29, 36].

Полиморфизам *R229Q* забележен је код три наша болесника са ФСГС. Од два оболела од кортикосте-роид-резистентног нефротског синдрома, код једног је постигнута ремисија циклоспорином, док је код другог болест била рефрактерна на сву примењену терапију и довела је до терминалне инсуфицијенције бубрега. Код трећег оболелог детета (с протеинури-јом 1-1,5 g/24 h) постигнута је ремисија циклоспори-ном, али се рецидив протеинурије, јачине до 1 g/24 h, јавио по прекиду лечења.

Подаци из неколико студија показују да су реци-диви ФСГС у трансплантирани бубрег код носилаца две мутације у гену *NPH2* врло ретки, 1:13-1:15, што је пет-шест пута ређе него у спорадичним, негенетским облицима ФСГС [29, 35, 38]. Међутим, носиоци хете-розиготних мутација, варијанти или *non silent* поли-морфизама имају високи ризик за појаву рецидива, сличан ризику код спорадичне ФСГС. Овај феномен још није објашњен на задовољавајући начин [35, 38].

Мутације у гену за *TRPC6*

Налаз да су мутације у гену за *TRPC6* (хромозом *11q21-22*, *OMIM 603965*) одговорне за аутозомно до-минантну ФСГС (ФСГС2) је најновије откриће у овој области [8, 9]. Досад је описано шест породица раз-личитог етничког порекла са пет мисенс мутација у одређеним егзонима гена *TRPC6*. Болест се клинички испољава јаком протеинуријом, почев од друге до шесте деценије (од 17. до 57. године), а код 60% боле-сника развојем у терминалну инсуфицијенцију бубре-га у року од десет година [8, 9]. *TRPC6* припада поро-дици јонских канала, који су значајни за бројне функ-ције ћелије, укључујући пренос сигнала за температу-ру, осмоларност и притисак [39]. *TRPC6* ствара канал за улазак калцијума у ћелије, који се активира преко стимулације фосфолипазе С [40] и функционално је повезан с подоцином и нефрином, тј. улази у састав ДП [9]. Три од пет познатих мутираних *TRPC6* про-теина доводе до продуженог и појачаног уласка кал-цијума у ћелије [8, 9]. Тачан патогенетски механизам којим мутант *TRPC6* доводи до ФСГС није познат, а претпоставља се да појачава сигнале који доводе до оштећења ћелије преко ангиотензина II [8, 40] или смањује способност подоцита да се адаптира на фи-зиолошке варијације које имају потенцијал за изазивање болести, као што су варијације притиска у гло-меруларним капиларима или метаболички пореме-

ћаји [41]. Према овоме концепту, поремећај функци-је *TRPC6* може да доведе до маладаптационог одго-вора цитоскелета на физиолошке стимулусе, а време-ном до спорадичног губитка подоцита као првог ко-рака у развоју ФСГС [41]. Каснији почетак болести него у аутозомно рецесивним поремећајима може да се објасни постојањем једног нормалног алела [8] или великом адаптационом способношћу подоцита [41].

Велико интересовање које је ово откриће изазва-ло [40-43] произилази из чињеница да се на јонске ка-нале може фармаколошки деловати и да *TRPC6* мо-же да буде патогенетски чинилац и у стеченим про-теинуријским болестима бубрега [17]. Наиме, у ек-сперименту је показано да *FK-506* (такролимус) инхи-бира активност *TRPC6 in vivo* [40].

CD2AP

CD2AP није само значајан адапторски протеин у подоцитима који повезује ДП с актинским цитоске-летом, већ учествује и у ремоделовању цитоскелета, у мотилитету ћелије, у ендцитози, у апоптози инду-кованој помоћу *TGF-β* [44].

Код два болесника с идиопатском ФСГС откриве-на је мутација у једном алелу *CD2AP* која је изазва-ла смањену експресију *CD2AP*. Претпостављено је да је ова хаплоинсуфицијенција предиспозиција за гло-мерулопатију механизмом поремећене ендцитозе и уклањања протеина из ГБМ [45]. Недавно је први пут описана хомозиготна мутација (*R612Stop*) у гену за *CD2AP*, која се клинички испољила протеинуријом, хематуријом и хипертензијом у првој години по ро-ђењу и терминалном инсуфицијенцијом бубрега кра-јем треће године, а патохистолошки колапсом гло-мерулопатијом и глобалном гломеруларном склеро-зом. Везивање мутираног протеина за актин било је драстично смањено [46].

ХЕРЕДИТАРНЕ ПОДОЦИТОПАТИЈЕ С ПОРЕМЕЋАЈИМА У ГЛОМЕРУЛАРНОЈ БАЗАЛНОЈ МЕМБРАНИ

Гломеруларна базална мембрана (ГБМ), као и дру-ге базалне мембране, утиче на диференцирање и про-лиферацију ћелија, па је, према томе, интактна ГБМ неопходна за исправну адхезију и функцију и подо-цита и ендотелних ћелија [47]. Овде ће бити речи о поремећајима који су резултат мутација у гену за ла-минин, компоненту која се и нормално налази у ГБМ, те о поремећајима који се испољавају накупљањем у ГБМ састојака који се у њој нормално не налазе. Бол-ести изазване мутацијама у генима за колаген типа IV разматрају се у другом раду овог суплемента [48].

Генска оштећења у *LAMB2* (*3p14-22*), који коди-ра синтезу β2 ланца ламинина, изазивају аутозом-но рецесивни Пиерсонов (*Pierson*) синдром (*OMIM*

150325) [49]. Ламинин се у ГБМ налази у облику тримера ($\alpha 5:\beta 2:\gamma 1$) и игра кључну улогу у диференцирању и адхезији подоцита за ГБМ [49]. Мутације у гену *LAMB2* које доводе до потпуног недостатка $\beta 2$ ланца (хомозиготи и сложени хетерозиготи) клинички се испољавају типичном клиничком сликом: конгенитални нефротски синдром са ДМС као патохистолошким супстратом и инсуфицијенција бубрега пре другог месеца по рођењу; окуларне манифестације обухватају микрокорију (екстремно уске и неактивне зенице), ненормалности рожњаче (буфталмос), сочива (*lenticonus posterior* и катаракта), ириса, цилијарног тела и ретине. Код болесника који преживе дуже од једне године постоје тешка мишићна хипотонија, психомоторна ретардација и слепило [49-51]. Мисенс мутације се испољавају променљивом клиничком сликом, од блажих облика Пиерсоновог синдрома (без микрокорије, катаракте и тежих поремећаја вида, с нормалним психомоторним развојем) до изолованог КНС, са патохистолошким супстратом ФСГС или неспецифичним променама подоцита и ГБМ, а без екстрареналних поремећаја [52-54].

Херeditарне болести бубрега са депозитима колагена типа III

Херeditарне болести бубрега са депозитима колагена типа III обухватају херeditарну онихоостеодисплазију и гломерулопатију с депозитима колагена типа III, док је ненормално накупљање фибронектина основ фибронектинске гломерулопатије [55]. У сва три случаја реч је о накупљању компоненти које се нормално не налазе у ГБМ.

Херeditарна онихоостеодисплазија

Херeditарна онихоостеодисплазија (ХООД; синдром *nail-patella* англосаксонских аутора; *OMIM 161200*) је аутозомно доминантна болест у којој постоје симетричне аномалије скелета и ноктију и обољење бубрега [55, 56]. За клиничку дијагнозу је неопходан налаз аплазије или хипоплазије пателе и дисплазије ноктију шака. Често се јављају и дисплазија лакта, друге аномалије скелета, од којих је патогномичан налаз „рогова” илијачних костију, и промене на очима.

Почетак и исход нефропатије, која се дијагностикује код 30-40% оболелих особа, веома су променљиви – почев од нефротског синдрома и инсуфицијенције бубрега у раном детињству до клинички неманифестне болести током целог живота, уз налаз асимптоматских поремећаја урина. Слабост бубрега се јавља код око 30% болесника. Морфолошке промене су типичне, а састоје се од задебљања и раслојености ГБМ и депозита влакнастог колагена типа III, па ГБМ на налазу ЕМ изгледа као изрижена мољцима.

ХООД је изазвана мутацијама у гену за транскрипциони фактор *LMX1B (9q34.1)*. *LMX1B* се у бубрегу експримује првенствено у подоцитима, у којима регулише експресију многих кључних протеина, укључујући нефрин, подоцин, *CD2AP* и алфа-3 и алфа-4 ланце колагена типа IV у ГБМ. Сматра се да поремећај регулације подоцитних гена игра кључну улогу у настанку нефропатије [56].

Гломерулопатија с накупљањем колагена типа III у мезангијумском матриксу и субендотелном слоју ГБМ се дели на два типа према клиничком почетку болести. У спорадичном облику, који се јавља код одраслих болесника, перзистентна протеинурија са хипертензијом или без ње се постепено појачава, уз слабљење функције бубрега. Аутозомно рецесивни облик се испољава протеинуријом у раном детињству, која се прогресивно појачава, а праћена је хипертензијом и инсуфицијенцијом бубрега. Нагла прогресија у терминалну слабост бубрега повезана је с развојем хемолитно-уремичког синдрома [55].

Фибронектинска гломерулопатија

Фибронектинска гломерулопатија, редак аутозомно доминантни поремећај, клинички се одликује хематуријом, протеинуријом, хипертензијом и спорим напредовањем у терминалну инсуфицијенцију бубрега. У мезангијуму и субендотелу се налазе масивни депозити фибронектина, мада његова патофизиолошка улога није позната. Болест може да рецидивира у трансплантирани бубрег. Претпоставља се да је одговорни ген у региону *1q32* [55].

ХЕРЕДИТАРНЕ ПОДОЦИТОПАТИЈЕ С ПОРЕМЕЋАЈИМА У ЦИТОСКЕЛЕТУ

За одржавање структурног интегритета подоцита неопходан је функционално адаптабилан цитоскелет који обезбеђује механичку чврстину и флексибилност. Основ цитоскелета у ПП подоцита чине микрофиламенти актина (*F*-актин), којима су придружени миозин II, алфа-актинин, талин, паксиллин, винкулин, синаптоподин и кортактин. Придружени протеини повезују влакна *F*-актина међусобно, а преко других протеина и са ГБМ, са ДП и с апикалним делом ПП. У физиолошким условима динамични актински цитоскелет део је адаптационог одговора подоцита на промене у микросредини. У патолошким стањима продужена реорганизација снопова актина чини главну структурну одлику ретракције ПП подоцита.

Мутације у гену за алфа-актинин 4

Мутације у гену за алфа-актинин 4 (*ACTN4, 19q13*) клинички се испољавају аутозомно доминантно

ФСГС (ФСГС1; *OMIM 603278*). Болест се одликује нефротском протеинуријом у адолесценцији или нешто касније и спором прогресијом у инсуфицијенцију бубрега [57]. Мутације су типа мисенс или тзв. *in frame* делеција, а процењено је да се јављају код 3-4% болесника са фамилијарном ФСГС и код мање од 1% са спорадичном ФСГС [58].

Алфа-актинин 4 у ПП подоцита унакрсно повећује влакна F-актина, а преко интегрин цитоскелет са ГБМ, те тако појачава интеракцију подоцит-ГБМ [59]. Мутантни облици алфа-актинина 4 су аберантно локализовани и стварају агрегате, а њихова функција је поремећена у смислу да се чвршће везују за актин и тако ремете његову функцију и да су подложни убрзаној протеолизи (тзв. *gain-of* и *loss-of* функција) [58, 60, 61]. Осим тога, агрегати мутираног алфа-актинина 4 могу да буду токсични за подоците [44]. Мада је алфа-актинин 4 експримиран свуда у организму, хумани фенотип код мутација гена *ACTN4* испољава се једино у бубрегу, што може да буде резултат поремећене интеракције два протеина специфичне за подоците или нарочите осетљивости подоцита на чак и суптилне промене у грађи цитоскелета [17].

Мутације у гену *MYH9*

Друга група поремећаја цитоскелета изазвана је мутацијама у гену *MYH9*, који кодира тешки ланац немишићног миозина *IIA* (*NMMHC-IIA*) [62, 63] и обухвата Меј-Хеглинову (*May-Hegglin*) аномалију (*OMIM 155100*), Себастијанов (*Sebastian*) синдром (*OMIM 605249*), Фехтнеров (*Fechtner*) синдром (*OMIM 153640*) и Епстинов (*Epstein*) синдром (*OMIM 153650*). *NMMHC-IIA* се експримује у тромбоцитима, бубрегу, леукоцитима и кохлеи. Осим улоге у контракцији, миозини класе *II* учествују у цитокинези, успостављању поларности и грађе хелије, хемотакси и развоју. Наведени поремећаји се преносе аутозомно доминантно, али има и спорадичних случајева [64]. Константна одлика је конгенитална макротромбоцитопенија с променљивом тенденцијом ка крварењу. Меј-Хеглинова аномалија и Себастијанов синдром се одликују и налазом инклузија у леукоцитима (енгл. *Döhle-like bodies*) различитих по ултраструктури, што служи за разликовање ова два поремећаја. Осим ове две одлике, у Фехтнеровом синдрому се јављају сензоринеурално оштећење слуха, катаракта и нефритис; Епстинов синдром се од претходног разликује изостанком катаракте и инклузионих телашаца у леукоцитима [62].

Макротромбоцитопенија постоји од рођења, а остале одлике се у различитој мери испољавају од раног детињства до средњег животног доба. Опсежна испитивања урађена последњих година довела су до закључка да наведени синдроми представљају променљиву клиничку експресију јединственог поремећаја – тзв. болести повезане са *MYH9* (енгл. *MYH9-related*

lated disease) [63]. Досад је описано 27 мутација у гену *MYH9*, али није утврђена јасна клиничко-патолошка корелација. Уочено је, међутим, да су мутације у неким доменима повезане с тежом, а у другима с лакшом клиничком сликом [65].

Нефритис се испољава хематуријом, протеинуријом и прогресијом у терминалну инсуфицијенцију бубрега, а патохистолошки као ФСГС. Разноликост клиничке слике код болесника с истом мутацијом, тј. налаз нефропатије, наглувости и катаракте код једних, а изостанак тих манифестација код других, указује на то да су за њихову појаву потребни додатни предиспонирајући генетски или епигенетски чиниоци [66].

Клиничка дијагноза Епстиновог синдрома постављена је код шеснаестогодишњака на основу позитивне породичне анамнезе, мегатромбоцитопеније (4000/*ccm*) од раног детињства, без склоности ка крварењу, јаке протеинурије (5,5 *g/24 h*) и сензоринеуралне наглувости. Очекује се резултат геномске анализе.

ХЕРЕДИТАРНЕ ПОДОЦИТОПАТИЈЕ С ПОРЕМЕЋАЈЕМ ТРАНСКРИПЦИОНИХ ФАКТОРА

Ген супресор Вилмсовог тумора (*WT1; 11q13*) кодира транскрипциони фактор који регулише више гена активних током развоја бубрега и гонада, а постнатално контролише експресију гена значајних за одржавање нормалне структуре и функције подоцита. Мутације у гену *WT1* одговорне су за настанак Дени-Драшовог (*Denys-Drash*) синдрома (ДДС; *OMIM 194080*) и Фрејжеровог (*Frasier*) синдрома (*OMIM 136680*). Оба синдрома одликују прогресивна гломерулопатија, интерсекс и склоност ка настанку тумора [67]. Дени-Драшов синдром обухвата тријаду: интерсекс, Вилмсов тумор бубрега и нефротски синдром с патохистолошким налазом ДМС. Фрејжеров синдром се одликује удруженошћу мушког псеудохермафродитизма, прогресивне гломерулопатије с морфолошким супстратом ФСГС и склоношћу ка настанку гонадобластома.

WT1 је сложен ген од десет егзона чији је протеински производ регулатор транскрипције. Егзони 1-6 кодирају производ укључен у репресију или активацију транскрипције, а егзони 7-10 кодирају четири тзв. *zinc fingers* протеина с високим афинитетом везивања за ДНК и РНК. У гену постоје два места алтернативног сплајсинга: у једном се укључује или искључује 17 аминокиселина које кодира егзон 5, а у другом се укључује или искључује секвенца од три аминокиселине (лизин, треонин, серин – КТС), између *zinc fingers* 3 и 4, у интрону 9. Као резултат постоје четири изоформе, које се експримују у стабилној сразмери током развоја и кроз цео живот. Изоформе КТС+ и КТС- се нормално налазе у односу 2:1 [67].

Дени-Драшов синдром

У Дени-Драшовом синдрому нефротски синдром резистентан на кортикостероиде почиње рано, пре друге а најкасније до четврте године, и доводи до терминалне инсуфицијенције бубрега. Унилатерални или билатерални Вилмсов тумор може да буде први знак синдрома или се открије током лечења болесника с нефропатијом. Ови болесници, с кариотипом 46XY, или су: а) хермафродити, или б) фенотипски женске особе, али само са рудиментима гонада, без епителних структура, или су в) са гонадама које имају и Волфове и Милерове дуктусе, или су г) с развијеним женским гонадама [68]. Непотпуни облици ДДС састоје се од гломерулопатије удружене или с поремећајима гениталија или с Вилмсовим тумором. Девојчице с кариотипом 46XX имају нормалне гениталије и нормалан пубертетски развој [69].

Код скоро свих болесника с потпуним или непотпуним ДДС налазе се хетерозиготне "germline" мутације и досад их је описано више од 80, преко 95% су мисенс мутације у егзонима 8 и 9, који кодирају *zinc fingers* 2 и 3. Мутације делују као доминантно негативне [67].

Гломерулопатија слична оној у ДДС може да се јави код болесника без других елемената тријаде [70], а код неких се налазе мутације у *WT1* истоветне онема у ДДС. Мутације *WT1* се понекад налазе код деце с изолованом ДМС, али већина болесника с овим ентитетом нема мутације у *WT1* [69, 71, 72].

Фрејжеров синдром

Протеинурија у Фрејжеровом синдрому се појављује обично између друге и шесте године или касније, прогресивно се појачава и води у нефротски синдром, који не реагује ни на какво лечење. Болест је споро прогресивног тока до терминалне инсуфицијенције бубрега, која наступа у другој или трећој деценији. Најчешћи патохистолошки налаз је ФСГС, али могу да се уоче и веома мале промене. После трансплантације не долази до рецидива нефротског синдрома. Сви болесници имају женске спољне гениталије, али је кариотип 46XY, утерус је мали, а гонаде су у облику врпци, с тенденцијом појаве гонадобластома. Билатералном гонадектомијом спречава се развој тумора. Дијагноза Фрејжеровог синдрома најчешће се заснива на налазу стероид-резистентне ФСГС, која напредује у слабост бубрега, и на кариотипу 46XY код фенотипски женске особе са гонадном дисгенезом.

За Фрејжеров синдром су типичне и константне мутације у интрону 9 гена *WT1*. Оне су хетерозиготне и већином настале *de novo*. Последица је смањена производња КТС+ изоформе и снижење КТС+/КТС- односа до инверзије. Недостатак или хаплоинсуфицијенција КТС+ изоформе изгледа да су одговорни за поремећаје развоја гениталног тракта код генетски

мушке особе и за дисфункцију подоцита. Иако су константне у Фрејжеровом синдрому, мутације у интрону 9 гена *WT1* нису и специфичне за Фрејжеров синдром и могу да се нађу у ДДС, код болесника с изолованом ДМС или лезијом ФСГС код фенотипски и генотипски нормалних мушкараца [73, 74].

Мутације у гену *WT1* се налазе и код болесника са спорадичним примарним кортикостероид-резистентним нефротским синдромом [32, 75, 76]. Код више од 300 болесника узраста до 18 година забележена је укупна инциденција мутација у *WT1* гену 6-7%, а само код особа женског пола 10-12%. Један део девојчица са мутацијама у интрону 9 нема ненормалности гениталија (што је најупадљивији знак Фрејжеровог синдрома) и не разликује се од класичне ФСГС. Друго запажање се односи на морфолошке промене, које у неким случајевима у раној фази болести могу да буду нетипичне и подсећају на Алпортов синдром, мада је касна лезија ФСГС. Особе старије од 18 година врло ретко имају мутације у гену *WT1*. Наведени резултати су основ за дијагностички протокол, према којем код болесника са стероид-резистентним нефротским синдромом млађих од 18 година треба трагати за мутацијама у генима *NPHS2* и *WT1*, укључујући и болесника који на биопсији немају типичне лезије ФСГС [32, 75, 76].

Мутације у *WT1* откривене су код четири наша болесника: код једног је био потпуно испољен Фрејжеров синдром [77]; код другог, с конгениталним нефротским синдромом, биопсијом бубрега је утврђена ДМС са брзим настанком слабости бубрега; код трећег болесника, генотипски и фенотипски особе женског пола, код које је откривена мутација типична за Фрејжеров синдром, у питању је нефротски синдром резистентан на сву примењену терапију, уз патохистолошки налаз ФСГС; четврти болесник је била адолесценткиња с кортикостероид-резистентним нефротским синдромом и ФСГС, резистенцијом на остале имуномодулаторне лекове и спором прогресијом у инсуфицијенцију бубрега, код које је у егзону 9 нађена варијанта (*1144C>T*) засад непознатог значаја [75].

Мутације у гену за ензим фосфолипазу С епсилон 1

Мутације у гену за ензим фосфолипазу С епсилон 1, која је неопходна у гломерулогенези (*PLCε1, 10q23*) могу да буду узрок нефротског синдрома у најмлађем узрасту (*PLCE1/NPHS3*) [78]. Хомозиготне *frameshift* и нонсенс мутације удружене су с појавом болести до четврте године, која код већине води у терминалну инсуфицијенцију бубрега до пете године, а патохистолошки супстрат је ДМС; мисенс мутације су повезане с каснијим почетком болести и налазом ФСГС [78]. Од великог потенцијалног терапијског значаја је запажање да је код два оболела детета постиг-

нута ремисија имуномодулаторном терапијом, што је уједно и први пример ремисије нефротског синдрома овог етиолошког типа која је постигнута имуносупресивном терапијом [78]. Мутације и *PLCε1* су чест узрок идиопатске ДМС: анализом 40 деце с идиопатском ДМС из свих крајева света показало се да се мутације у гену за *PLCE1* налазе у 28,6% породица, а знатно ређе (8,5%) су откривене мутације у гену *WT1* [72]. Осим *WT1*, *PLCE1* и *LMXB1*, вероватно је да и ген *SMARCA1* регулише експресију протеина подоцита [79].

ХЕРЕДИТАРНЕ ПОДОЦИТОПАТИЈЕ СА ПОРЕМЕЋАЈИМА У ЋЕЛИЈСКИМ ОРГАНЕЛАМА

Генски поремећаји у митохондријама

Генски поремећаји у митохондријама све чешће се описују као узрок гломеруларних болести. Геном митохондрија је комплет од 37 екстрахромозомских гена који кодирају полипептиде респираторног ланца, рибозомну и транспортну митохондријску ДНК (мтДНК). Најчешће се налазе мутације у генима за ензиме који учествују у оксидационој фосфорилацији и производњи енергије. Типичан пример митохондријске цитопатије је транзиција *A3243G* у гену *MTTL1*, који кодира транскрипциону РНК^{Leu(YPP)}. Ово је и најчешћа мутација у мтДНК, првобитно описана код деце са синдромом *MELAS* (митохондријска енцефалопатија, лактатна ацидоза и тзв. догађај сличан удару – енгл. *stroke-like episode*) [80-82].

Гломерулопатија у почетку може да буде изоловани налаз, али је чешће удружена с екстрауралним симптомима, најчешће неуромускуларним и кардијалним, окуларним и хепатичким. Клиничка слика је неспецифична: протеинурија у узрасту од две године до 35 година с прогресивним појачањем до развоја нефротског синдрома и уз променљиву брзину прогресије у терминалну инсуфицијенцију бубрега. Хематурија се скоро никад не јавља. Код скоро свих болесника код којих је урађена биопсија откривена је ФСГС. У подоцитима се понекад бележе промене броја и изгледа митохондрија, али је налаз много чешће нормалан. Имуномодулаторна терапија нема ефекта [83, 84].

Митохондријским подоцитопатијама недавно су придодата два нова поремећаја: недостатак *COQ10* изазван аутозомно рецесивном мисенс мутацијом у гену *COQ2* са налазом протеинурије и ФСГС [85] и недостатак у респираторном ланцу (комплекс II+V) с клиничком сликом конгениталног нефротског синдрома [86] уз још неутврђен одговорни генски локус. У оба поремећаја ренални фенотип је део сложене клиничке слике.

Патогенеза подоцитне дисфункције у ФСГС није разјашњена. Претпоставља се да су подоцити, као

терминално диференциране ћелије, врло осетљиви на поремећаје у оксидационој фосфорилацији [17].

Поремећај лизозома подоцита

Поремећај лизозома подоцита може да се испољи њиховом дисфункцијом. У Фабријевој болести, системској сфинголипидози везаној за X-хромозом изазваној мутацијама у гену *galA* с наследним потпуним или делимичним недостатком алфа-галактозидазе, депозити глоботриозилцерамида се налазе у подоцитима, другим ћелијама гломерула и ћелијама дисталног тубула [17, 84, 87]. Протеинурија се јавља упоредо с другим кардиналним одликама болести – неуропатијом, ангиокератомима, кардиоваскуларним и цереброваскуларним поремећајима. Тежина клиничке слике је у корелацији с резидуалном активношћу ензима. Болест бубрега је прогресивна, са појачањем протеинурије, развојем хипертензије и настанком слабости бубрега до пете деценије живота. Налаз биопсије открива вакуоле у подоцитима и ћелијама дисталног тубула, а касније прогресивну склерозу гломерула, атрофију тубула и фиброзу интерстицијума [87]. За разлику од других подоцитопатија, лечење супституцијом ензима обећава успех.

ХЕРЕДИТАРНЕ ПОДОЦИТОПАТИЈЕ С ПОРЕМЕЋАЈИМА У АПИКАЛНОМ ДОМЕНУ ПРСТАСТИХ ПРОДУЖЕТАКА

Најобилније заступљени сијалогликопротеин у гломерулу је подокаликсин. Он се налази у ћелијама ендотела и на апикалној површини ПП подоцита, а с актинским цитоскелетом је повезан преко *NHERF2* и фосфорилисаног езрина. Нестанак интеракције подокаликсина и актина доводи до развоја нефротског синдрома с фузијом подоцита. Хипосијалинизација или десијалинизација подокаликсина јавља се у експерименталним моделима нефротског синдрома (давање сијалидазе, пуромицина, протамин-сулфата) у којима је могуће спречити настанак овог синдрома и структурних промена истовременом применом сијалинске киселине [88]. Наведени налази истичу значај који има сијалинизација протеина у контроли структуре и функције гломерула.

Недавно је у експерименталном моделу описана гломеруларна болест изазвана генским поремећајем у биосинтези сијалинске киселине [89]. Наиме, мутације у гену за кључни ензим у синтези сијалинске киселине (*Gne/Mnk*) доводе до хипосијалинизације подокаликсина с појавом хематурије, протеинурије, раслојавања ГБМ и фузије подоцита. Додатком у храни *N*-ацетил-манозамина, прекурсора сијалинске киселине, наведене промене су у знатној мери ублажене, уз побољшање сијалинизације подокаликсина и појачање експресије гена *Gne/Mnk* [89]. Ови налази бу-

де наду да би такав једноставан терапијски приступ могао да буде користан у широком спектру гломеруларних болести у хуманој патологији [88].

Мутације у гену *Gne/Mnk*, хуманом аналогу мишјег гена, одговорне су за аутозомно рецесивну неуромускуларну болест – херидитарну миопатију с инклузионим телашцима (OMIM 600737), која се испољава код одраслих особа и има споро прогресивни ток. Мишићна влакна показују смањену сијалинизацију протеина и подлежу фибрози. Међутим, код ових болесника досада нису описане ненормалности функције бубрега [89].

ХЕРЕДИТАРНЕ ПОДОЦИТОПАТИЈЕ С РАНИМ И КАСНИМ ПОЧЕТКОМ БОЛЕСТИ

Група хуманих болести и експерименталних модела с раним почетком одликују се потпуним развојем гломерула и целог нефрона, али је матурација подоцита тешко поремећена и већ на рођењу је уочљива њихова лезија која се испољава недостатком или тешким оштећењем ДП. Овој групи болести припадају Пиерсонов синдром, КНСФ и неке мутације гена *NPHS2*, *WT1* и *PLCε1*. Оне су резултат тешких структурних оштећења разних састојака гломеруларног филтра (ДП или ГБМ) или главних сигнала за развој и опстанак подоцита. Основна морфолошка одлика је мезангијска склероза са колапсом капилара. Поремећени фенотип, са застојем у развоју подоцита, одговоран је за ове промене, а не, као у случају класичног модела ФСГС, подоцитопенија и капиларно-капсуларне адхезије [13, 90], које се у овој групи болести не јављају.

Болести с касним почетком испољавају се од касног детињства до одраслог доба протеинуријом која се појачава различитом брзином. Овој групи припадају аутозомно доминантни облици ФСГС (мутације у генима *ACTN4*, *MYH9* и *TRPC6*, неке мутације гена *WT1* с клиничком сликом Фрејжеровог синдрома, ХООД). У свим овим случајевима, с изузетком Фрејжеровог синдрома и ХООД, створени су ПП и ДП, али је одржавање њихове нормалне структуре и функције касније компромитовано и на крају долази до дегенерације гломерула. У основи ових болести налази се повећана вулнерабилност подоцита на спољашње, чак и физиолошке утицаје, који делују као тзв. *second hit* [60, 61, 90], што на крају доводи до појачаног губитка подоцита. Подоцитопенија потом доводи до ФСГС и слабљења функције бубрега [41, 90].

НАЈЧЕШЋЕ МУТАЦИЈЕ У ПРИМАРНОМ НЕФРОТСКОМ СИНДРОМУ У ПРВОЈ ГОДИНИ ПО РОЂЕЊУ

Мутације у четири гена (*NPHS1*, *NPHS2*, *WT1* и *LAMB2*) одговорне су за око две трећине случајева

примарног нефротског синдрома у првој години по рођењу [91]. Анализа 89 болесника из Европе показала је да су мутације у наведеним генима одговорне за 85% случајева конгениталног и 44% случајева инфантилног нефротског синдрома. При том су и у КНС и у инфантилном нефротском синдрому најчешће забележене мутације у *NPHS2* (37,5%); мутације у *NPHS1* су откривене само у КНСФ (22,5%), док су знатно ређе заступљене мутације у генима *WT1* (3,8%) и *LAMB2* (2,5%) [91]. Овом анализом, међутим, нису обухваћени болесници овог узраста с мутацијама у гену за *PLCE1*.

Осим ових, у првој години живота могу да се испоље и други херидитарни облици нефротског синдрома, као што су Головеј-Моватов (*Galloway-Movat*) синдром, митохондријске цитопатије, ХООД и мутације у гену *PLCE1* [19, 72].

ЗАКЉУЧАК

Ненормалности структуре и функције подоцита узрок су бројних протеинуријских гломеруларних болести – подоцитопатија. Дисфункција подоцита може да буде идиопатске, генетске или реактивне етиологије. Наша сазнања о функцији подоцита и њиховој улози у прогресији гломеруларних болести рапидно се увећавају, највише захваљујући открићима у области молекуларне генетике и препознавању гена чије мутације доводе до губитка функционалног интегритета подоцита. Разнолика природа протеина које кодирају мутирани гени сведочи о слојеној структури подоцита, помоћу које они успостављају и одржавају гломеруларни филтар за макромолекуле. То је довело до савременог концепта да се афекција подоцита налази у основи већине наследних гломерулопатија напредног тока. Генетска дијагноза је на располагању за све већи број наследних подоцитопатија и њу треба обавити кад год је то могуће, будући да је већина ових болести резистентна на примењено лечење.

ЗАХВАЛНИЦА

Аутор захваљује др Наташи Стајић и др Јовани Путник на помоћи у обради резултата испитивања наших болесника, а Бранкици Крсмановић и Александру Боберићу на помоћи у припреми рукописа.

НАПОМЕНА

Рад је уређан у оквиру пројекта број 145046 Министарства за науку и заштиту животне средине Републике Србије.

ЛИТЕРАТУРА

- Tryggvason K, Patrakka J, Wartiovaara J. Hereditary proteinuria syndromes and mechanisms of proteinuria. *N Engl J Med* 2006; 354:1387-401.
- Kawachi H, Miyauchi N, Suzuki K, Dong Han G, Orikasa M, Shimizu F. Role of podocyte slit diaphragm as a filtration barrier. *Nephrology* 2006; 11:274-81.
- Pavenstadt H, Kriz W, Kretzler M. Cell biology of the glomerular podocyte. *Physiol Rev* 2003; 83:253-307.
- Faul C, Asanuma K, Yanagida-Asanuma E, Kim K, Mundel P. Actin up: regulation of podocyte structure and function by components of the actin cytoskeleton. *Trends Cell Biol* 2007; 17:429-37.
- Kerjaschki D. Caught flat-footed: podocyte damage and the molecular bases of focal glomerulosclerosis. *J Clin Invest* 2001; 108:1583-7.
- Holthöfer H. Molecular architecture of the glomerular slit diaphragm: lessons learnt for a better understanding of disease pathogenesis. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22:2124-8.
- Wartiovaara J, Öfverstedt LG, Khoshnoodi J, et al. Nephrin stands contribute to a porous slit diaphragm scaffold as revealed by electron tomography. *J Clin Invest* 2004; 114:1475-83.
- Winn MP, Conlon PJ, Lynn KL, et al. A mutation in the TRPC6 cation channel causes familial focal segmental glomerulosclerosis. *Science* 2005; 308:1801-4.
- Reiser J, Polu KR, Moller CC, et al. TRPC6 is a glomerular slit diaphragm-associated channel required for normal renal function. *Nat Genet* 2005; 37:739-44.
- Shankland SJ. The podocyte's response to injury: Role in proteinuria and glomerulosclerosis. *Kidney Int* 2006; 69:2131-47.
- Asanuma K, Yanagida-Asanuma E, Takagi M, Kodama F, Yasuhiko T. The role of podocytes in proteinuria. *Nephrology* 2007; 12:S15-S20.
- Barisoni L, Schnaper W, Kopp JB. A proposed taxonomy for the podocytopathies: A reassessment of the primary nephrotic diseases. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2:529-42.
- Wiggins RC. The spectrum of podocytopathies: A unifying view of glomerular diseases. *Kidney Int* 2007; 71:1205-14.
- Nakamura T, Ushiyama C, Suzuki S, et al. The urinary podocyte as a marker for the differential diagnosis of idiopathic focal glomerulosclerosis and minimal-change nephrotic syndrome. *Am J Nephrol* 2000; 20:175-9.
- Krize W. Podocyte is the major culprit accounting for the progression of chronic renal disease. *Microsc Res Tech* 2002; 57:189-95.
- Krize W, LeHir M. Pathways to nephron loss starting from glomerular disease – Insights from animal models. *Kid Int* 2005; 67:404-19.
- Möller CC, Pollak MR, Reiser Jochen. The genetic basis of human glomerular disease. *Adv Chr Kidney Dis* 2006; 13:166-73.
- Bogdanović R. Nasledne glomerulske bolesti. In: Bogdanović R, Peco-Antić A, editors. *Nasledne bolesti bubrega*. Beograd: Elit-Medica; 2003. p.35-72.
- Holmberg C, Triggvason K, Kestila MK, Jalanko NH. Congenital nephrotic syndrome. In: Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, editors. *Pediatric Nephrology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins; 2004. p.503-16.
- Kuusniemi AM, Merenmies J, Lahdenkari AT, et al. Glomerular sclerosis in kidneys with congenital nephrotic syndrome (NPHS1). *Kidney Int* 2006; 70:1423-31.
- Kestila M, Lenkkeri U, Männikkö M, et al. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein-nephrin is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol Cell* 1998; 1:575-82.
- Liu L, Doné SC, Khoshnoodi J, et al. Defective nephrin trafficking caused by missense mutations in the NPHS1 gene: Insight into the mechanisms of congenital nephrotic syndrome. *Hum Mol Genet* 2001; 10:2637-44.
- Liu XL, Done SC, Yan K, Kilpelainen P, Pikkarainen T, Tryggvason K. Defective trafficking of nephrin missense mutants rescued by a chemical chaperone. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:1731-8.
- Patrakka J, Ruotsalainen V, Reponen P, et al. Recurrence of nephrotic syndrome in kidney grafts of patients with congenital nephrotic syndrome of the Finnish type: role of nephrin. *Transplantation* 2002; 73:394-403.
- Koziell A, Grech V, Hussain S, et al. Genotype/phenotype correlations of NPHS1 and NPHS2 mutations in nephrotic syndrome advocate a functional inter-relationship in glomerular filtration. *Hum Mol Genet* 2002; 11:379-88.
- Kitamura A, Tsukaguchi H, Hiramoto R, et al. A familial childhood-onset relapsing nephrotic syndrome. *Kidney Int* 2007; 71:946-51.
- Patrakka J, Tryggvason K. Nephrin – a unique structural and signaling protein of the kidney filter. *Trends Mol Med* 2007; 13:396-403.
- Jalanko H. Congenital nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*; DOI: 10.1007/s00467-007-0633-9.
- Antignac C. A genetic view of nephrosis. Available from: www.ndt-educational.org/80/antignacintro2006.asp.
- 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; 24:349-54.
- Caridi G, Bertelli R, Di Duca M, et al. Broadening of the spectrum of diseases related to podocin mutations. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14:1278-86.
- Ruf RG, Lichtenberger A, Karle SM, et al. Patients with mutations in NPHS2 (podocin) do not respond to standard steroid treatment of nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:722-32.
- Weber S, Gribouval O, Esquivel EL, et al. NPHS2 mutation analysis shows genetic heterogeneity of steroid resistant NS and low post-transplant recurrence. *Kidney Int* 2004; 66:571-9.
- Hinkes B, Vlangos C, Heeringa S, et al. Specific podocin mutations correlate with age of onset in steroid-resistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19:365-71.
- Caridi G, Perfumo F, Ghiggeri GM. NPHS2 (podocin) mutations in nephrotic syndrome. clinical spectrum and fine mechanisms. *Pediatr Res* 2005; 57:R54-R61.
- Tsukaguchi H, Sudhaker A, Le TC, et al. NPHS2 mutations in late-onset focal segmental glomerulosclerosis: R229Q is a common disease-associated allele. *J Clin Invest* 2002; 110:1659-66.
- Pereira AC, Pereira AB, Mota GF, et al. NPHS2 R229Q functional variant is associated with microalbuminuria in the general population. *Kidney Int* 2004; 65:1026-30.
- Weber S, Tonsholl B. Recurrence of focal-segmental glomerulosclerosis in children after renal transplantation: Clinical and genetic aspects. *Transplantation* 2005; 80:S128-S34.
- Huber TB, Schermer B, Benzing T. Podocin organizes ion channel-lipid supercomplexes: Implications for mechanosensation at the slit diaphragm. *Exp Nephrol* 2007; 106:e27-e31.
- Mukerji N, Tirupapulur V, Damodaran M, Winn P. TRPC6 and FSGS: The latest TRP channelopathy. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1772:859-68.
- Kriz W. TRPC6 – A new podocyte gene involved in focal segmental glomerulosclerosis. *Trends Mol Med* 2005; 11:527-30.
- Winn MP, Daskalakis N, Spurney RF, Middleton JP. Unexpected role of TRPC6 channel in familial nephrotic syndrome: Does it have clinical implications? *J Am Soc Nephrol* 2006; 17:378-87.
- Schlondorff JS, Pollak MR. TRPC6 in glomerular health and disease: What we know and what we believe. *Semin Cell Dev Biol* 2006; 17:667-74.
- Kwoh CH, Shannon MB, Miner J, Shaw A. Pathogenesis of nonimmune glomerulopathies. *Ann Rev Pathol Mech Dis* 2006; 1:349-74.
- Kim J, Wu H, Green G, et al. CD2-Associated protein haploinsufficiency is linked to glomerular disease susceptibility. *Science* 2003; 300:1298-300.
- Löwik M, Groenen P, Pronk I, et al. Focal segmental glomerulosclerosis in a patient homozygous for a CD2AP mutation. *Kidney Int* 2007; 72:1198-203.
- Miner JH. Building the glomerulus: a matricentric view. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:857-61.
- Vizjak A, Glavač D, Hvala A, Ferluga D. Spectrum of collagen type IV nephropathies: From thin basement membrane nephropathy to Alport syndrome. *Srp Arh Celok Lek* 2008; 136(Suppl 4):323-6.
- Zenker M, Aigner T, Wendler O, et al. Human laminin beta2 deficiency causes congenital nephrosis with mesangial sclerosis and distinct eye abnormalities. *Hum Mol Genet* 2004; 13:2625-32.
- Van De Voorde R, Witte D, Kogan J, Goebel J. Pierson syndrome: A novel cause of congenital nephrotic syndrome. *Pediatrics* 2006; 118:e501-5.
- Wühl E, Kogan J, Zurowska A, et al. Neurodevelopmental deficits in Pierson (microcoria-congenital nephrosis) syndrome. *Am J Med Genet A* 2007; 143:311-9.
- Matejas V, Al-Gazali L, Amirlak I, Zenker M. A syndrome comprising childhood-onset glomerular kidney disease and ocular abnormalities with progressive loss of vision is caused by mutated LAMB2. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21:3283-6.
- Hasselbacher K, Wiggins RC, Matejas V, et al. Recessive missense mutations in LAMB2 expand the clinical spectrum of LAMB2-associated disorders. *Kidney Int* 2006; 70:1008-12.
- Kagan M, Cohen AH, Matejas V, Vlangos C, Zenker M. A milder variant of Pierson syndrome. *Pediatr Nephrol* 2008; 23:323-7.

55. Gubler MC. Inherited diseases of the glomerular basement membrane. *Nat Clin Pract Nephrol* 2008; 4:24-37.
56. Bongers EM, Huysmans FT, Levchenko E, et al. Genotype-phenotype studies in nail-patella syndrome show that LMX1B mutation location is involved in the risk of developing nephropathy. *Eur J Hum Genet* 2005; 13:935-46.
57. Kaplan JM, Kim SH, North KN, et al. Mutations in ACTH4, encoding alpha-actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet* 2000; 24:251-6.
58. Weins A, Kenlan P, Herbert S, et al. Mutational and biological analysis of alpha-actinin-4 in focal segmental glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:3694-701.
59. Dandapani SV, Sugimoto H, Mathews BD, et al. alpha-actinin-4 is required for normal podocyte adhesion. *J Biol Chem* 2007; 282:467-77.
60. Yao J, Le TC, Kos CH, et al. alpha-Actinin-4-mediated FSGS: An inherited kidney disease caused by an aggregated and rapidly degraded cytoskeletal protein. *PLOS Biol* 2004; 2(6):787-94.
61. Michaud J, Kennedy CH. The podocyte in health and disease: insight from the mouse. *Clin Sci* 2007; 112:325-35.
62. Heath KE, Campos-Barros A, Toren A, et al. Nonmuscle myosin heavy chain IIA mutations define a spectrum of autosomal dominant macrothrombocytopenias: May-Hegglin anomaly and Fechtner, Sebastian, Epstein, and Alport-Like syndromes. *Am J Hum Genet* 2001; 69:1033-45.
63. Seri M, Pecci A, Di Bari F, et al. MYH9-related disease May-Hegglin anomaly, Sebastian syndrome, Fechtner syndrome, and Epstein syndrome are not distinct entities but represent a variable expression of a single illness. *Medicine* 2003; 82:203-15.
64. Kunishima S, Saito H. Congenital macrothrombocytopenias. *Blood Reviews* 2006; 20:111-21.
65. Pecci A, Panza E, Pujol-Moix N, et al. Position of nonmuscle myosin heavy chain IIA (NMMHC-IIA) mutations predicts the natural history of MYH9-related disease. *Hum Mutat* 2008; 29:409-17.
66. Ghiggeri GM, Caridi G, Magrini U, et al. Genetics, clinical and pathological features of glomerulonephritis associated with mutations of nonmuscle myosin IIA (Fechtner syndrome). *Am J Kidney Dis* 2003; 41:95-104.
67. Niaudet P, Gubler MC. WT1 and glomerular diseases. *Pediatr Nephrol* 2006; 21:1653-60.
68. Mueller RF. The Denys-Drash syndrome. *J Med Genet* 1994; 31:471-7.
69. Jeanpierre C, Denamur E, Cabanis MO, et al. Identification of constitutional WT1 mutations in patients with isolated diffuse mesangial sclerosis (IDMS) and analysis of genotype-phenotype correlations using a computerized mutation database. *Am J Hum Genet* 1998; 62:824-33.
70. Habib R, Gubler MC, Antignac C, Gagnadoux MF. Diffuse mesangial sclerosis: a congenital glomerulopathy with nephrotic syndrome. *Adv Nephrol* 1993; 22:43-56.
71. Ito S, Takata A, Hataya H, et al. Isolated diffuse mesangial sclerosis and Wilms tumor suppressor gene. *J Pediatr* 2001; 138:425-7.
72. Gbadegehin R, Hinkes BG, Hoskins BE, et al. Mutations in PLCE1 are a major cause of isolated diffuse mesangial sclerosis (IDMS). *Nephrol Dial Transplant*; DOI: 10.1093/ndt/gfm759.
73. Pelletier J, Bruening W, Kashtan CE, et al. Germline mutations in the Wilms' tumor suppressor gene are associated with abnormal urogenital development in Denys-Drash syndrome. *Pediatr Nephrol* 1991; 67:437-47.
74. Tajima T, Sasaki S, Tanaka Y, et al. 46, XY phenotypic male with focal segmental glomerulosclerosis caused by the WT1 splice site mutation. *Horm Res* 2003; 60:302-5.
75. Mucha B, Ozaltin F, Hinkes BG, 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; 59:325-31.
76. Aucella F, Bisceglia L, De Bonis P, et al. WT1 mutations in nephrotic syndrome revisited. High prevalence in young girls, associations and renal phenotypes. *Pediatr Nephrol* 2006; 21:1393-8.
77. Milošević B, Đapić M, Bogdanović R, Stojanović V, Stajić N, Nikolić V. Sindroma Frasier: glomerulopatija i disgeneza ovarijuma prouzrokovane mutacijom WT1 gena. Zbornik radova, III kongres pedijatar Jugoslavije/Srbije i Crne Gore, 22-26. septembar 2002, Herceg Novi. Novi Sad: Udruženje pedijatar Jugoslavije; 2002. p.180.
78. Hinkes B, Wiggins RC, Gbadegehin R, et al. Positional cloning uncovers mutations in PLCE1 responsible for a nephrotic syndrome variant that may be reversible. *Nat Genet* 2006; 38:1397-405.
79. Boerkoel CF, Takashima H, John J, et al. Mutant chromatin remodeling protein SMARCAL1 causes Schimke immuno-osseous dysplasia. *Nat Genet* 2002; 30:215-20.
80. Yamagata K, Muro K, Usui J, et al. Mitochondrial DNA mutations in focal segmental glomerulosclerosis lesions. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:1816-23.
81. Guéry B, Choukroun G, Noël L, et al. The Spectrum of Systemic Involvement in Adults Presenting with Renal Lesion and Mitochondrial tRNA (Leu) Gene Mutation. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14:2099-108.
82. Löwik MM, Hol FA, Steenbergen EJ, Wetzels JF, Van den Heuvel LP. Mitochondrial tRNA Leu (UUR) mutation in a patient with steroid-resistant nephrotic syndrome and focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20:336-41.
83. Niaudet P. The kidney in mitochondrial cytopathies. *Kidney Int* 1997; 51:1000-7.
84. Gubler MC, Heidet L, Antignac C. Inherited glomerular diseases. In: Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, editors. *Pediatric Nephrology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p.517-42.
85. Quinzii C, Naini A, Salvati L, et al. A mutation in para-hydroxybenzoate-polyphenyl transferase (COQ2) causes primary coenzyme Q₁₀ deficiency. *Am J Hum Genet* 2006; 78:345-9.
86. Goldenberg A, Ngoc LH, Thouret M, et al. Respiratory chain deficiency presenting as congenital nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2005; 20:465-9.
87. Branton MH, Schiffmann R, Sabnis SG, et al. Influence of alpha-galactosidase activity and genetic mutations on clinical course. *Medicine* 2002; 81:122-38.
88. Ronco P. Proteinuria: is it all in the foot? *J Clin Invest* 2007; 117:2079-82.
89. Galeano B, Klootwijk R, Manoli I, et al. Mutation in the key enzyme of sialic acid biosynthesis causes severe glomerular proteinuria and is rescued by N-acetylmannosamine. *J Clin Invest* 2007; 117:1585-94.
90. LeHir M, Krize W. New insights into structural patterns encountered in glomerulosclerosis. *Curr Opin Nephrol Hypert* 2007; 16:184-91.
91. Hinkes BG, Mucha B, Vlangos CN, et al. Nephrotic syndrome in the first year of life: Two thirds of cases are caused by mutations in 4 genes (NPHS1, NPHS2, WT1, and LAMB2). *Pediatrics* 2007; 119:e907-19.

INHERITED PODOCYTOPATHIES

Radovan BOGDANOVIĆ

Institute of Mother and Child Health Care of Serbia "Dr Vukan Čupić", Belgrade

SUMMARY

Podocytes, the visceral glomerular epithelial cells, are the postmythotic cells that line the outer aspects of the glomerular basement membrane. A number of advances have been made in recent years, linked to the discovery of single-gene defects in hereditary glomerular disease, which highlight the role of these cells in preventing proteinuria. Despite the rarity of hereditary proteinuric syndromes, genetic, biochemical, and structural studies of these diseases have made important contributions to our knowledge of how the normal glomerular filter works and the mechanism of proteinuria. The course of these diseases can vary; some patients present with severe proteinuria and congenital nephrotic syndrome, whereas others have only moderate proteinuria and focal segmental glomerulosclerosis. Regardless of its cause, the disease often progresses to end-stage renal disease. There can be overlap between the diseases: mutations in the same gene can lead to different renal phenotypes. It is important to know that some hereditary podocytopathies

respond to therapy, whereas majority does not. For this reason, genetic testing, which is available for some hereditary podocytopathies should be performed whenever possible. This review summarizes recent progress in the elucidation of genetic causes of disease and discusses their implication for the understanding of the pathogenic mechanisms which can lead to disruption of the glomerular filtration barrier.

Key words: podocyte; proteinuria; hereditary diseases; glomerular filter

Radovan BOGDANOVIĆ

Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije

„Dr Vukan Čupić“

Radoja Dakića 6-8, 11070 Beograd

Tel.: 3108 105, 3108 116

Faks: 3108 160

E-mail: majkaidete@ptt.yu