



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
«ΜΟΡΙΑΚΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ»

ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΑ
ΜΟΡΙΑ ΠΟΥ ΑΠΑΡΤΙΖΟΥΝ ΤΟΝ ΣΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ
ΔΙΗΘΗΤΙΚΟ ΦΡΑΓΜΟ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Αθηνά Μ. Γιόγιακα

ΑΜ: 20170454

ΑΘΗΝΑ, 2024



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

«ΜΟΡΙΑΚΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ»

ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΑ ΜΟΡΙΑ ΠΟΥ ΑΠΑΡΤΙΖΟΥΝ ΤΟΝ ΣΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΔΙΗΘΗΤΙΚΟ ΦΡΑΓΜΟ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Αθηνά Μ. Γιόγιακα

ΑΜ: 20170454

Μέλη Συμβουλευτικής Επιτροπής:

1^ο: Γακιοπούλου Χαρίκλεια, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
(επιβλέπουσα)

2^ο: Κουτσιλιέρης Μιχαήλ, Ομότιμος Καθηγητής Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

3^ο: Νόννη Αφροδίτη, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

ΑΘΗΝΑ, 2024

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ.....	v
ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΕΣ	v
ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ	ix
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	1
ABSTRACT	3
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	5
Ο ΣΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ	7
Δομή του σπειραματικού διηθητικού φραγμού	7
Λειτουργία του σπειραματικού διηθητικού φραγμού	13
ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΩΝ ΠΟΔΟΚΥΤΤΑΡΩΝ	16
ΓΟΝΙΔΙΑ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ ΜΕ ΤΟ ΣΧΙΣΜΟΕΙΔΕΣ ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ	19
Το γονίδιο <i>NPHS1</i>	19
Το γονίδιο <i>NPHS2</i>	22
Το γονίδιο <i>PLCE1</i>	23
Το γονίδιο <i>TRPC6</i>	26
Το γονίδιο <i>CD2AP</i>	27
Τα γονίδια <i>KIRREL</i>	28
Το γονίδιο <i>MAGI2</i>	29
ΓΟΝΙΔΙΑ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ ΜΕ ΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΤΩΝ ΠΟΔΟΚΥΤΤΑΡΩΝ	31
Το γονίδιο <i>PODXL</i>	31
Το γονίδιο <i>PTPRO</i>	32
Το γονίδιο <i>EMP2</i>	33
ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΟΥ	34
Το γονίδιο <i>ACTN4</i>	34
Το γονίδιο <i>MYO1E</i>	34
Το γονίδιο <i>MYH9</i>	35
Τα γονίδια <i>ANLN</i> και <i>AVIL</i>	38
Το γονίδιο <i>INF2</i>	38
Το γονίδιο <i>SYNPO</i>	40
Γονίδια σχετιζόμενα με την οικογένεια πρωτεϊνών Rho (Rho GTPases)	41
ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΠΥΡΗΝΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ	45
ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ	50
ΣΥΝΘΕΤΕΣ ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ	51
Το γονίδιο <i>APOL1</i>	51

Το γονίδιο <i>GPC5</i>	53
ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΗΣ ΣΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΒΑΣΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ	54
Γονίδια για τη laminin (<i>LAMB2</i> και <i>LAMA5</i>).....	54
Γονίδια για το Κολλαγόνο IV (<i>COL4A1-6</i>).....	56
Άλλα γονίδια σχετιζόμενα με το κολλαγόνο.....	60
Γονίδια για τις ιντεγκρίνες (<i>ITGA3, ITGB1, ITGB4</i>).....	61
Το γονίδιο <i>CD151</i>	61
ΓΟΝΙΔΙΑ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ	63
Σχετιζόμενα με την οδό του συμπληρώματος.....	63
Μη σχετιζόμενα με την οδό του συμπληρώματος	64
ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΩΝ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΛΛΑΓΩΝ ΣΤΗΝ ΕΚΔΗΛΩΣΗ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ	66
ΤΡΕΧΟΥΣΕΣ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ	69
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	71
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	73

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΕΣ

AADAG: arachidonic acid–containing diacylglycerol

AHUS: atypical hemolytic uremic syndrome (άτυπο αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο)

ApoL1: apolipoprotein L1 (απολιποπρωτεΐνη L1)

ARHGAP24: Rho GTPase activating protein 24

ARHGDIA: Rho GDP dissociation Inhibitor alpha

BMP: bone morphogenetic protein

Bp: base pair (ζεύγος βάσεων)

C3: complement component 3

C5: complement component 5

CC: Coiled- coil (σπειροειδές σπείραμα)

CCVs: clathrin-coated vesicles (καλυμμένα με κλαθρίνη κυστίδια)

CD2AP: CD2- associated protein

Cdc42: cell division control protein 42 homolog

Cdk20: cyclin-dependent kinase 20

CFB: complement factor B

CFH: complement factor H

CFI: complement factor I

CI: confidence interval (διάστημα εμπιστοσύνης ή αξιοπιστίας)

CMT: Charcot- Marie- Tooth

CMTDIE: Charcot- Marie- Tooth disease dominant intermediate subtype E

CNF: congenital nephrotic syndrome of the Finnish type

CNIs: calcineurin inhibitors (αναστολείς καλσινευρίνης)

DAD: diaphanous autoregulatory domain

DAG: diacylglycerol (διακυλογλυκερόλη)

DDR1: discoidin domain receptor tyrosine kinase 1

DDS: Denys-Drash syndrome

DID: diaphanous inhibitory domain

DKGε: Diacylglycerol Kinase Epsilon

DLC1: Deleted in liver cancer 1

DMS: diffuse mesangial sclerosis (διάχυτη μεσαγγειακή σκλήρυνση)

EDRF: endothelium-derived relaxing factor

EMP2: epithelial membrane protein 2

ESRD: End stage renal disease (Νεφρική νόσος τελικού σταδίου)

F- actin: filamentous actin

FAT1: FAT tumor suppressor homolog 1 ή FAT atypical cadherin 1

FGF: Fibroblast Growth Factor

FGFR: Fibroblast Growth Factor Receptor

FH: formin homology

FPs: foot processes (ποδοειδείς προσεκβολές)

FS: Frasier syndrome

FSGS: focal segmental glomerulosclerosis (εστιακή τμηματική σπειραματοσκλήρυνση)

G-actin: globular actin

GBM: glomerular basement membrane (σπειραματική βασική μεμβράνη)

GFB: glomerular filtration barrier (σπειραματικός διηθητικός φραγμός)

GFR: glomerular filtration rate (ρυθμός σπειραματικής διήθησης)

GLEPP1: glomerular epithelial protein 1

GWAS: genome-wide association studies

HR: hazard ratio (σχετικός κίνδυνος)

HDL: high- density lipoprotein

HRG: high risk genotype

INF2: inverted formin 2

IP3: inositol 1,4,5-triphosphate (1,4,5-τριφωσφορική ινοσιτόλη)

IQGAP1: IQ motif- containing GTPase- activating protein 1

KANK: kidney ankyrin repeat- containing protein

LMX1B: LIM homeobox transcription factor 1B

MAF bZIP (ή MAFB): V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B

MAGI: Membrane-associated guanylate kinase, WW and PDZ domain-containing proteins

MAL: myelin and lymphocyte, T cell differentiation protein

MCD: minimal change disease (νόσος ελαχίστων αλλοιώσεων)

MCDK: multicystic dysplastic kidney (πολυκυστικός δυσπλαστικός νεφρός)

MCP: membrane cofactor protein

MCTO: Multicentric carpo-tarsal osteolysis syndrome

MMP-10: matrix metalloproteinase-10

MYH9-RD: MYH9- related disease

MYO1E: myosin 1E (μυοσίνη 1E)

N- WASP: Neuronal Wiskott- Aldrich syndrome protein

NC: non- collagenous

Nck: non-catalytic region of tyrosine kinase adaptor proteins

NCV: nerve conduction velocity (κινητική ταχύτητα αγωγής νεύρων)

NEPH: nephrin-like proteins (πρωτεΐνες που προσομοιάζουν στη νεφρίνη)

NFAT: nuclear factor of activated T cells

NGS: Next Generation Sequencing (αλληλούχιση επόμενης γενιάς)

NHERF2: Na⁺/H⁺ exchange regulatory cofactor 2

NK: natural killer cells

NM II: non-muscle myosin II (μη μυϊκή μυοσίνη τάξης II)

NMD: nonsense-mediated mRNA decay (σύστημα αποδόμησης ασυνθετικών RNA)

NMMHC-IIA: non-muscle myosin heavy chain IIA

NPC: nuclear pore complexes

NUP: nucleoporin proteins (νουκλεοπορίνες)

OR: odds ratio (σχετικός λόγος)

PAF: platelet-activating factor

PAI-1: plasminogen activator inhibitor-1

Pax2: paired box protein 2

PDGF-B: Platelet-derived growth factor subunit B

PIP2: Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (4,5-διφωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη)

PKC: protein kinase C

PLCε1: Phospholipase C epsilon 1 (φωσφολιπάση Cε1)

PODXL (ή PL): Podocalyxin (ποδοκαλυξίνη)

PP: primary processes (πρωτογενείς προσεκβολές)

PTPRO: Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type O

Rac1: Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1

RasGEF: Ras guanine nucleotide exchange factors

SD: slit diaphragm (σχισμοειδές διάφραγμα)

SH3: Src Homology 3

SNPs: single nucleotide polymorphisms (πολυμορφισμοί μεμονωμένων νουκλεοτιδίων)

SRA: serum resistance-associated

SRNS: steroid-resistant nephrotic syndrome (κορτικο-ανθεκτικό νεφρωσικό σύνδρομο)

SSNS: steroid-sensitive nephrotic syndrome (κορτικο-ευαίσθητο νεφρωσικό σύνδρομο)

t-PA: tissue-type plasminogen activator

TF: tissue factor

TGFβ-1: Transforming growth factor beta 1

TNS2: tensin-2

TRPC: transient receptor potential cation channel, subfamily C

VEGF: vascular endothelial growth factor

VUR: Vesicoureteral reflux (κυστεοουρητηρική παλινδρόμηση)

VWF: von Willebrand factor

WES: whole- exome sequencing (αλληλούχιση του συνόλου των εξονίων)

WGS: whole- genome sequencing (αλληλούχιση του συνόλου του γονιδιώματος)

WT1: Wilms Tumor protein 1

ZO-1: Zonula Occludens protein 1

ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ

AA: Αφρο-Αμερικανοί

ΧΝΝ: Χρόνια Νεφρική Νόσος

ΣΕΛ: Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος

ΔΝ: διαβητική νεφροπάθεια

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι σπειραματικές παθήσεις αντιπροσωπεύουν ένα διόλου αμελητέο ποσοστό των κύριων αιτιών της χρόνιας νεφρικής νόσου. Η ακεραιότητα του σπειραματικού διηθητικού φραγμού είναι θεμελιώδης για τη διατήρηση του σπειράματος και της υγείας των νεφρών. Αποτελείται από ενδοθηλιακά κύτταρα με θυρίδες, μια βασική μεμβράνη στη μέση και σπλαχνικά επιθηλιακά κύτταρα (ποδοκύτταρα) που καλύπτουν την εξωτερική πλευρά του σπειραματικού τριχοειδούς. Τα τελευταία, αγκυρωμένα στη βασική μεμβράνη, χαρακτηρίζονται από έναν κυτταροσκελετό ακτίνης και εξειδικευμένες συνδέσεις μεταξύ τους, γνωστές ως σχισμοειδή διαφράγματα. Μεταλλάξεις σε περισσότερα από 80 γονίδια έχουν βρεθεί να προκαλούν διαταραχές του σπειραματικού διηθητικού φραγμού, με τη συντριπτική πλειοψηφία αυτών να εντοπίζεται στα ποδοκύτταρα. Η κλινική εκδήλωση αυτών των παθογόνων γονοτύπων είναι το νεφρωσικό σύνδρομο- ορίζεται ως μαζική πρωτεϊνουρία (>3,5 g/24h), υποαλβουμιναιμία και οίδημα- που είναι κυρίως ανθεκτικό στη θεραπεία με κορτικοστεροειδή και οδηγεί σε νεφρική ανεπάρκεια. Το συχνότερο ιστολογικό πρότυπο είναι η εστιακή τμηματική σπειραματοσκλήρυνση (FSGS) και σε κάποιες περιπτώσεις πρώιμης έναρξης η διάχυτη μεσαγγειακή σκλήρυνση (DMS).

Τα γονίδια αυτά ταξινομούνται ως σχετιζόμενα με τα ξεχωριστά υπερδομικά συστατικά των ποδοκυττάρων, καθώς και με τα υπόλοιπα μέρη του σπειραματικού διηθητικού φραγμού. Τα γονίδια που σχετίζονται με το σχισμοειδές διάφραγμα κωδικοποιούν πρωτεΐνες (νεφρίνη, ποδοσίνη, PLCε1, TRPC6, CD2AP, NEPH, MAGI2) οι οποίες ρυθμίζουν τη δομή, την ακεραιότητα, τη σηματοδότηση, τη διαφοροποίηση και τη μετανάστευση των κυττάρων, την αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού, τις ανοσολογικές αλληλεπιδράσεις και την επιβίωση. Τα γονίδια που σχετίζονται με την κυτταρική μεμβράνη των ποδοκυττάρων (*PODXL*, *PTPRO*, *EMP2*) κωδικοποιούν πρωτεΐνες που συνεισφέρουν στην εκλεκτικότητα ως προς το φορτίο, την ακεραιότητα, τη σηματοδότηση και την ενδοκυττάρωση. Τα γονίδια του κυτταροσκελετού (*ACTN4*, *MYO1E*, *MYH9*, *ANLN*, *AVIL*, *INF2*, *SYNPO*, γονίδια σχετιζόμενα με την οικογένεια πρωτεϊνών Rho) εμπλέκονται στην ακεραιότητα, την ομοιόσταση, την αλληλεπίδραση με την κυτταρική μεμβράνη και το πρωτεϊνικό σύμπλεγμα του σχισμοειδούς διαφράγματος, τη δυναμική της ακτίνης και την κίνηση των ποδοκυττάρων. Παραλλαγές μεταγραφικών παραγόντων (*WT1*, *PAX2*, *LMX1B*, *MAFB*, *E2F3*) και

πυρηνικών (*NUP*, *XPO5*) ή μιτοχονδριακών γονιδίων (*MTTL1*, *MTATP6*, γονίδια που εμπλέκονται στη βιοσύνθεση του συνενζύμου Q10) μπορούν να προκαλέσουν ένα ευρύ φάσμα συστηματικών συνδρόμων, που περιλαμβάνουν νεφρικές εκδηλώσεις. Οι σύνθετες γενετικές συσχετίσεις αναφέρονται σε παραλλαγές του γονιδίου *APO1* που αυξάνουν τον κίνδυνο FSGS και υπερτασικής νεφροπάθειας στους Αфро-Αμερικανούς, ενώ το *GPC5* αποτελεί γονίδιο κινδύνου για νεφρωσικό σύνδρομο και ευπάθεια σε νεφρική βλάβη στους διαβητικούς. Τα γονίδια της βασικής μεμβράνης (*LAMB2*, *LAMA5*, γονίδια που σχετίζονται με το κολλαγόνο IV, γονίδια ιντεγκρινών, *CD151*) συνδέονται επίσης με συστηματικές και/ή νεφρικές διαταραχές που σχετίζονται με τη λειτουργία του σπειραματικού φραγμού. Τέλος, παραλλαγές σε γονίδια που επηρεάζουν την ενδοθηλιακή λειτουργία σχετίζονται με διαταραχή στη ρύθμιση του συμπληρώματος ή όχι (*DGKE*) και οδηγούν σε aHUS και θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια.

Μεγάλες μελέτες κοορτής ταυτοποίησαν μονογονιδιακή αιτία σε κορτικο-ανθεκτικό νεφρωσικό σύνδρομο ή FSGS πριν από το 25ο έτος της ηλικίας στο 30% των οικογενειών. Το ποσοστό αυτό συσχετίστηκε αντίστροφα με την ηλικία έναρξης της νόσου. Η μοριακή διάγνωση των διαταραχών του σπειραματικού φραγμού έχει αλλάξει τις τελευταίες 3 δεκαετίες με τη χρήση της τεχνικής αλληλούχισης επόμενης γενιάς που επιτρέπει τον γρήγορο και με χαμηλό κόστος έλεγχο για παθογόνες και νέες παραλλαγές. Η έγκαιρη ανίχνευση του υποκείμενου μηχανισμού θα μπορούσε επομένως να μας επιτρέψει να αποφύγουμε περιττές θεραπείες, όπως κορτικοειδή και ανοσοκατασταλτικούς παράγοντες, σε ανθεκτικές περιπτώσεις και να μας ωθήσει στη χρήση αποτελεσματικών θεραπειών (όπως το eculizumab στο aHUS).

Η παρούσα ανασκόπηση αποσκοπεί στην περιγραφή ολοκληρωμένων συσχετίσεων γονοτύπου και φαινοτύπου, δίνοντας έμφαση στη μοριακή φυσιολογία των γενετικών διαταραχών όσον αφορά καθένα από τα συστατικά του σπειραματικού φραγμού: τα ποδοκύτταρα, τη βασική μεμβράνη και τα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Λέξεις- κλειδιά: σπειραματικός διηθητικός φραγμός, νεφρωσικό σύνδρομο, εστιακή τμηματική σπειραματοσκλήρυνση, ποδοκύτταρο, γονίδιο

ABSTRACT

Glomerular diseases represent a non-negligible percentage across the primary causes of chronic kidney disease. Glomerular filtration barrier integrity is fundamental for the preservation of glomerulus and renal health. It consists of fenestrated endothelial cells, basement membrane in the middle and visceral epithelial cells (podocytes) covering the outer aspect of the glomerular capillary. The latter, anchored to basement membrane, are characterized by an actin-based cytoskeleton and specialized junctions between each other, known as slit diaphragms. Defects in more than 80 genes have been found to cause disorders of the glomerular filtration barrier, the vast majority of them localizing to the podocytes. The clinical manifestation of these pathogenic genotypes is the nephrotic syndrome -defined as massive proteinuria (>3,5 g/24h), hypoalbuminemia and edema- mainly resistant to treatment with corticosteroids and resulting to kidney failure. The most frequent pathologic pattern is focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) and in some early-onset cases diffuse mesangial sclerosis (DMS).

The above genes are classified as related to the separate ultrastructural components of podocytes, as well as the rest parts of glomerular filtration barrier. Slit diaphragm-related genes encode proteins (nephrin, podocin, PLC ϵ 1, TRPC6, CD2AP, NEPH, MAGI2) regulating structure, integrity, signaling, cell differentiation and migration, cytoskeleton rearrangement, immunological interactions and survival. Podocytes cell-membrane related genes (*PODXL*, *PTPRO*, *EMP2*) encode proteins conferring to charge selectivity, integrity, signaling and endocytosis. Cytoskeletal genes (*ACTN4*, *MYO1E*, *MYH9*, *ANLN*, *AVIL*, *INF2*, *SYNPO*, genes related to Rho family GTPases) are involved in integrity, homeostasis, interaction to cell membrane and slit diaphragm-protein complex, actin turnover and podocyte movement. Variants of transcription factors (WT1, PAX2, LMX1B, MAFB, E2F3) and nuclear (*NUP*, *XPO5*) or mitochondrial genes (*MTTL1*, *MTATP6*, genes involved in coenzyme Q10 biosynthesis) can cause a wide spectrum of systemic syndromes including kidney manifestations. Complex genetic associations are referred to variants in the *APOL1* gene that increase the risk of FSGS and hypertensive kidney disease in African-Americans, while *GPC5* is a risk gene for nephrotic syndrome and susceptibility to kidney damage in diabetics. Base membrane genes (*LAMB2*, *LAMA5*, collagen IV-related genes, integrin genes, *CD151*) are also associated to systemic and/or renal

disorders related to glomerular barrier function. Finally, variants in genes affecting endothelial function are related to complement dysregulation or not (*DGKE*), leading to aHUS and thrombotic microangiopathy.

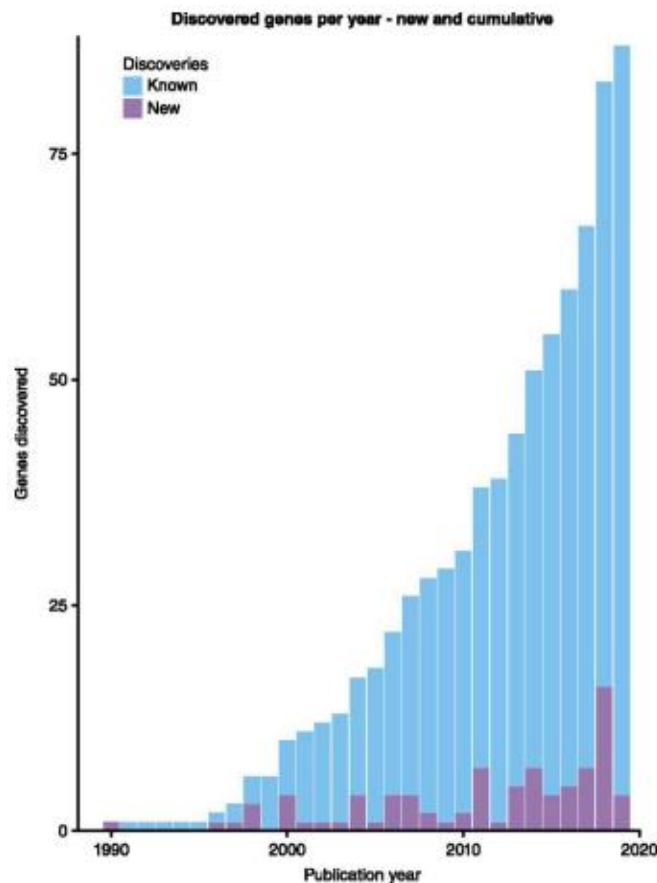
Several large cohort studies identified the monogenic cause of steroid-resistant nephrotic syndrome or FSGS before 25th year of age in 30% of families. This percentage was inversely associated to the age of disease onset. Molecular diagnosis of glomerular barrier disorders have been changed during the last 3 decades with the use of next-generation sequencing technique allowing for rapid and low-cost screening for pathogenic and novel variants. Early detection of the underlying mechanism could therefore enable us to avoid unnecessary therapies, as with glucocorticoids and immunosuppressive agents, in resistant cases and prompt us to use effective therapies (as eculizumab in aHUS).

This review is aiming to describe integrated genotype and phenotype correlations, emphasizing on molecular physiology of genetic disorders regarding each component of glomerular filtration barrier: podocytes, basement membrane and endothelial cells.

Key words: glomerular filtration barrier, nephrotic syndrome, focal segmental glomerulosclerosis, podocyte, gene

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Μεταλλάξεις σε περισσότερα από 80 γονίδια έχουν συσχετιστεί με διαταραχές του σπειραματικού διηθητικού φραγμού. Την τελευταία δεκαετία σημειώθηκε ραγδαία αύξηση στην ανακάλυψη νέων γονιδίων και ο κατάλογος αυτός επεκτείνεται συνεχώς με τη χρήση της αλληλούχισης επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing, NGS) σε μεγάλες μελέτες κοορτής (Li et al., 2020). Η αλληλούχιση του συνόλου των εξονίων (whole- exome sequencing, WES) και του συνόλου του γονιδιώματος (whole- genome sequencing, WGS) επιτρέπουν την ταχεία ανίχνευση τόσο παθογόνων όσο και νέων γονιδιακών παραλλαγών σε προσβεβλημένα άτομα και στις οικογένειές τους όπου απουσιάζει μια γενετική διάγνωση (Reterrer et al., 2016).



Εικόνα 1. Η ραγδαία αύξηση στην ανακάλυψη γονιδίων. Παρατηρείται ραγδαία αύξηση την τελευταία δεκαετία, από 29 γονίδια το 2009 σε 87 το 2019 (Li et al., 2020).

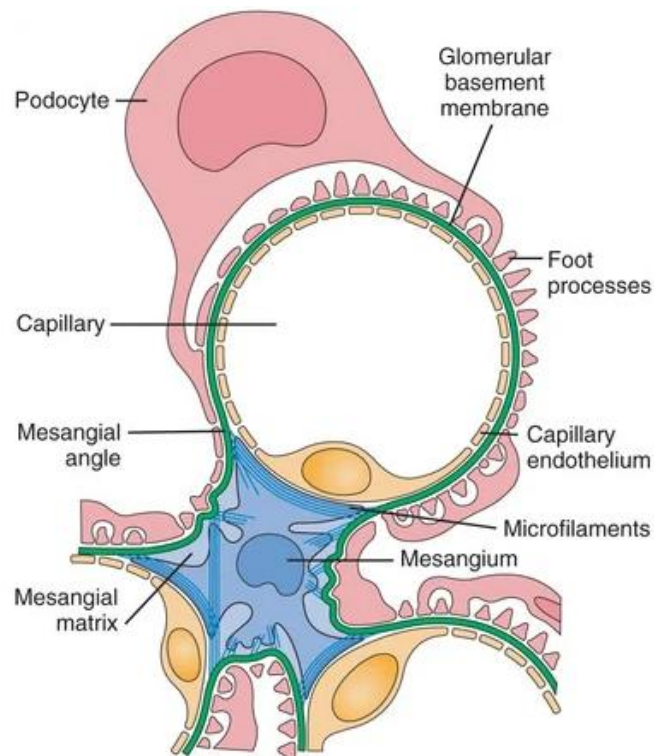
Επιπλέον, η πρόοδος σε κυτταροειδικές τεχνικές γενετικής μηχανικής όπως ο τοποειδικός ανασυνδυασμός του συστήματος Cre/lox (Cre-lox recombination) (Yarmolinsky and Hoess, 2015) και πιο πρόσφατα η τεχνολογία γονιδιωματικής επεξεργασίας CRISPR/Cas9 (WareJoncas et al., 2018) έχει επιτρέψει την *in vivo* και την *in vitro* μοντελοποίηση της γονιδιακής λειτουργίας. Έτσι, ξεκινώντας από την ανακάλυψη των γονιδίων και την ταυτοποίηση των γονιδιακών παραλλαγών και καταλήγοντας στην δημιουργία πειραματικών μοντέλων, έχει βελτιωθεί σημαντικά η κατανόηση της λειτουργίας του σπειραματικού διηθητικού φραγμού (glomerular filtration barrier, GFB) τόσο σε υγιή άτομα όσο και σε παθολογικές καταστάσεις. Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η βιβλιογραφική ανασκόπηση των κυριότερων γενετικών ανωμαλιών των μορίων που απαρτίζουν το διηθητικό φραγμό λαμβάνοντας υπόψη τα τρία βασικά του συστατικά:

- τα ενδοθηλιακά κύτταρα
- τη σπειραματική βασική μεμβράνη
- και τα ποδοκύτταρα

Ο ΣΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ

Δομή του σπειραματικού διηθητικού φραγμού

Σε μικροσκοπικό επίπεδο, ο σπειραματικός φραγμός διήθησης αποτελείται από τρία στρώματα: τα ποδοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και την παρεμβλλόμενη σπειραματική βασική μεμβράνη.



Εικόνα 2. Σχηματική απεικόνιση μιας τριχοειδικής αγκύλης του νεφρικού σπειράματος. Διακρίνονται τα συστατικά του σπειραματικού διηθητικού φραγμού και η περιοχή του μεσαγγείου (Johnson et al., 2018).

Τα **σπειραματικά ενδοθηλιακά κύτταρα** έχουν μεγάλες θυρίδες, πόρους διαμέτρου 50-100 nm και καλύπτονται από ένα αρνητικά φορτισμένο επιφανειακό στρώμα που αποτελείται σε μεγάλο βαθμό από γλυκοκάλκα και συμβάλλει στην εκλεκτικότητα του φραγμού ως προς το φορτίο (Haraldsson and Jeansson, 2009).

Οι πόροι δεν έχουν διαφραγμάτια. Διαφραγμάτια διαπιστώνονται μόνο στο ενδοθήλιο του τελικού τμήματος των απαγωγών αρτηριδίων (Elger et al., 1998).

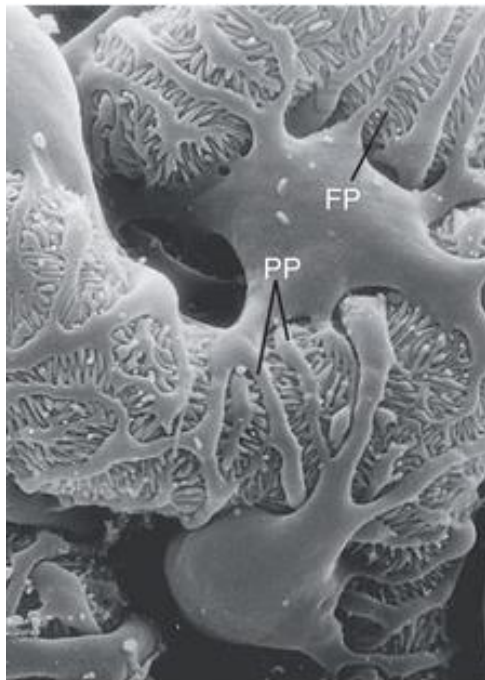
Τα ενδοθηλιακά κύτταρα συμμετέχουν ενεργά στις διαδικασίες που ελέγχουν την πήξη και τη φλεγμονή. Διαθέτουν υποδοχείς για τον VEGF (vascular endothelial growth factor), τις αγγειοποιητίνες (angiopoietins), τον TGFβ-1 (Transforming growth factor beta 1) κ.ά. Συνθέτουν και απελευθερώνουν τον PDGF-B (Platelet-derived growth factor subunit B), την ενδοθηλίνη-1 (endothelin-1) και τον EDRF (endothelium-derived relaxing factor), μεταξύ άλλων (Obeidat et al., 2012).

Η **σπειραματική βασική μεμβράνη** (glomerular basement membrane, GBM) αποτελεί μια μοναδική περίπτωση βασικής μεμβράνης που παρεμβάλλεται μεταξύ του σπειραματικού θυριδωτού ενδοθηλίου και του σπλαγγχνικού επιθηλίου της κάψας του Bowman (ποδοκύτταρα) και προκύπτει από τη σύντηξη δύο διακριτών βασικών μεμβρανών που παράγονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα ποδοκύτταρα. Η GBM χρησιμεύει ως σκελετός των τριχοειδών του σπειράματος. Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, η GBM εμφανίζεται σαν τριστιβαδωτή δομή, αποτελούμενη από μία πυκνή στιβάδα (lamina densa) που περιβάλλεται από δύο λιγότερο πυκνές στιβάδες, την εσωτερική αραιή στιβάδα (lamina rara interna) και την εξωτερική αραιή στιβάδα (lamina rara externa) (Inoue, 1994; Miner, 2011).

Τα κύρια συστατικά της GBM περιλαμβάνουν κολλαγόνο τύπου IV, laminin, nidogen και πρωτεογλυκάνες θειϊκής ηπαράνης, όπως και οι βασικές μεμβράνες σε άλλες περιοχές. Ωστόσο, η GBM έχει αρκετές μοναδικές ιδιότητες, με αξιοσημείωτη την ύπαρξη ποικίλων ισομορφών κολλαγόνου τύπου IV και laminin. Η ώριμη GBM αποτελείται από κολλαγόνο τύπου IV, που σχηματίζεται από αλυσίδες α3, α4, α5 (αντί για αλυσίδες α1 και α2 που περιέχουν οι βασικές μεμβράνες στους περισσότερους ιστούς) και από laminin-521, αποτελούμενη από αλυσίδες α5, β2 και γ1. Το ηλεκτροαρνητικό φορτίο της GBM προκύπτει κυρίως από την παρουσία πολυανιονικών πρωτεογλυκανών. Οι κύριες πρωτεογλυκάνες της GBM είναι αυτές της θειϊκής ηπαράνης, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται η περλεκάνη (perlecan) και η αγκρίνη (agrin). Τα μόρια των πρωτεογλυκανών συναθροίζονται και σχηματίζουν ένα δίκτυο, το οποίο διατηρείται σε μεγάλο βαθμό ενυδατωμένο από μόρια ύδατος, τα οποία παγιδεύονται στο διάμεσο χώρο της θεμέλιας ουσίας (Miner, 2011; Lennon et al., 2014a).

Τα **ποδοκύτταρα** είναι εξειδικευμένα επιθηλιακά κύτταρα, τα οποία καλύπτουν την εξωτερική πλευρά των σπειραματικών τριχοειδών και αντιστοιχούν στη σπλαγγχνική

επιθηλιακή στιβάδα της κάψας του Bowman. Είναι εξαιρετικά διαφοροποιημένα και υπό φυσιολογικές συνθήκες δεν πολλαπλασιάζονται. Στηρίζουν τις τριχοειδικές αγκύλες και αντιδρούν στις μεταβολές της ενδοσπειραματικής πίεσης. Τα ποδοκύτταρα έχουν ένα ευμέγεθες κυτταρικό σώμα από το οποίο εξορμούν πρωτογενείς προσεκβολές (primary processes, PP) που εκτείνονται προς τα τριχοειδή του σπειράματος και καταλήγουν σε πολυάριθμες δευτερογενείς προσεκβολές, τις ποδοειδείς προσεκβολές (foot processes, FPs) (Ichimura et al., 2015; Garg, 2018).



Εικόνα 3. Εικόνα ποδοκυττάρων από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Διακρίνονται τα ευμεγέθη κυτταρικά σώματα, οι πρωτογενείς προσεκβολές (PP) και οι ποδοειδείς προσεκβολές (FP) (Johnson et al., 2018).

Η κυτταρική μεμβράνη των ποδοειδών προσεκβολών και κατ'επέκταση των ποδοκυττάρων, παρουσιάζει τρεις διακριτές περιοχές με διαφορετική μοριακή σύσταση: την κορυφαία (apical) που έρχεται σε επαφή με τον χώρο του Bowman, τη βασική (basal) που συνδέεται με τη GBM και την περιοχή του σχισμοειδούς διαφράγματος. Η κορυφαία περιοχή της κυτταρικής μεμβράνης επικαλύπτεται από ένα στρώμα γλυκοπρωτεϊνών, το οποίο είναι αρνητικά φορτισμένο και αποτελείται κυρίως από τη γλυκοπρωτεΐνη ποδοκαλυξίνη (podocalyxin). Η βασική περιοχή συνδέεται με τη GBM μέσω δύο ομάδων συμπλόκων συγκόλλησης (integrins, dystroglycans), ενώ

το σχισμοειδές διάφραγμα είναι η μοναδική περιοχή επαφής μεταξύ δύο γειτονικών, ώριμων ποδοκυττάρων (Patrakka and Tryggvason, 2010).

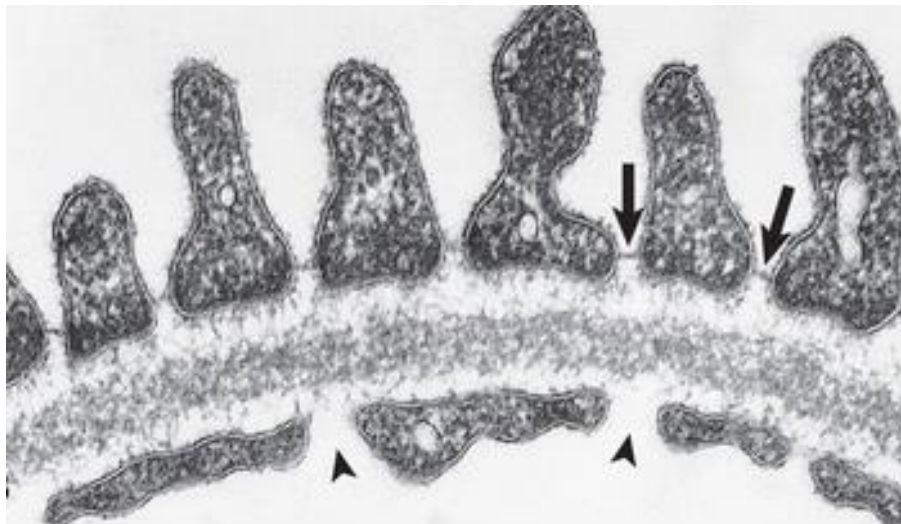
Σε αντίθεση με το κυτταρικό σώμα, το οποίο διαθέτει ένα εκτεταμένο ενδοπλασματικό δίκτυο και σύστημα Golgi και έχει ένα καλά αναπτυγμένο μηχανισμό ενδοκυττάρωσης και αυτοφαγίας, οι προσεκβολές των ποδοκυττάρων εκτός από τα ενδοκυτταρικά στοιχεία περιέχουν μόνο λίγα οργανίδια.

Ένας περίπλοκος κυτταροσκελετός ευθύνεται για το περίπλοκο σχήμα των κυττάρων και την ικανότητά τους να το μεταβάλλουν δυναμικά. Ο κυτταροσκελετός των ποδοκυττάρων αποτελείται από τρία συστατικά: τα ινίδια ή νημάτια ακτίνης (actin filaments), γνωστά και ως μικροϊνίδια, με διάμετρο 7-9 nm, τα ενδιάμεσα ινίδια (intermediate filaments) με διάμετρο 10 nm και τους μικροσωληνίσκους (microtubules) με διάμετρο 24 nm. Κάθε είδος ινιδίου σχηματίζεται από μια διαφορετική πρωτεϊνική υπομονάδα. Η βασική δομική μονάδα των ινιδίων ακτίνης είναι η G-actin (globular actin), η οποία πολυμερίζεται, σχηματίζοντας ινίδια F-actin (filamentous actin). Τα ινίδια ακτίνης είναι πολωμένες δομές που αυξάνουν με προσθήκη μονομερών ακτίνης και στα δύο άκρα, αλλά ο ρυθμός αύξησης είναι μεγαλύτερος στο (+) άκρο παρά στο (-) άκρο. Ένα γυμνό νημάτιο, χωρίς επικουρικές πρωτεΐνες, είναι εγγενώς ασταθές και μπορεί να αποσυναρμολογηθεί και από τα δύο άκρα του. Η συναρμολόγηση και ο αποπολυμερισμός τους ελέγχονται από την υδρόλυση του ATP, το οποίο είναι ισχυρά συνδεδεμένο με κάθε μονομερές ακτίνης. Στο κυτταρικό σώμα και στις πρωτογενείς προσεκβολές κυριαρχούν οι μικροσωληνίσκοι (tubulin) και τα ενδιάμεσα ινίδια (vimentin, desmin). Εντός των FPs, τα ινίδια ακτίνης (β -actin) σχηματίζουν δεσμίδες σχήματος U διατεταγμένες ως προς τον επιμήκη άξονα δύο διαδοχικών FPs. Κεντρικά οι δεσμίδες αυτές συνδέονται με τους μικροσωληνίσκους των πρωτογενών προσεκβολών, ενώ περιφερικά συνδέονται με τη GBM, μέσω διαμεμβρανικών πρωτεϊνών (integrins και dystroglycans). Διάφορες πρωτεΐνες που συνδέονται με την ακτίνη (actin-associated proteins) όπως η α -actinin-4, η synaptopodin και η myosin σταθεροποιούν τον κυτταροσκελετό των ποδοκυττάρων (Faul, 2014).

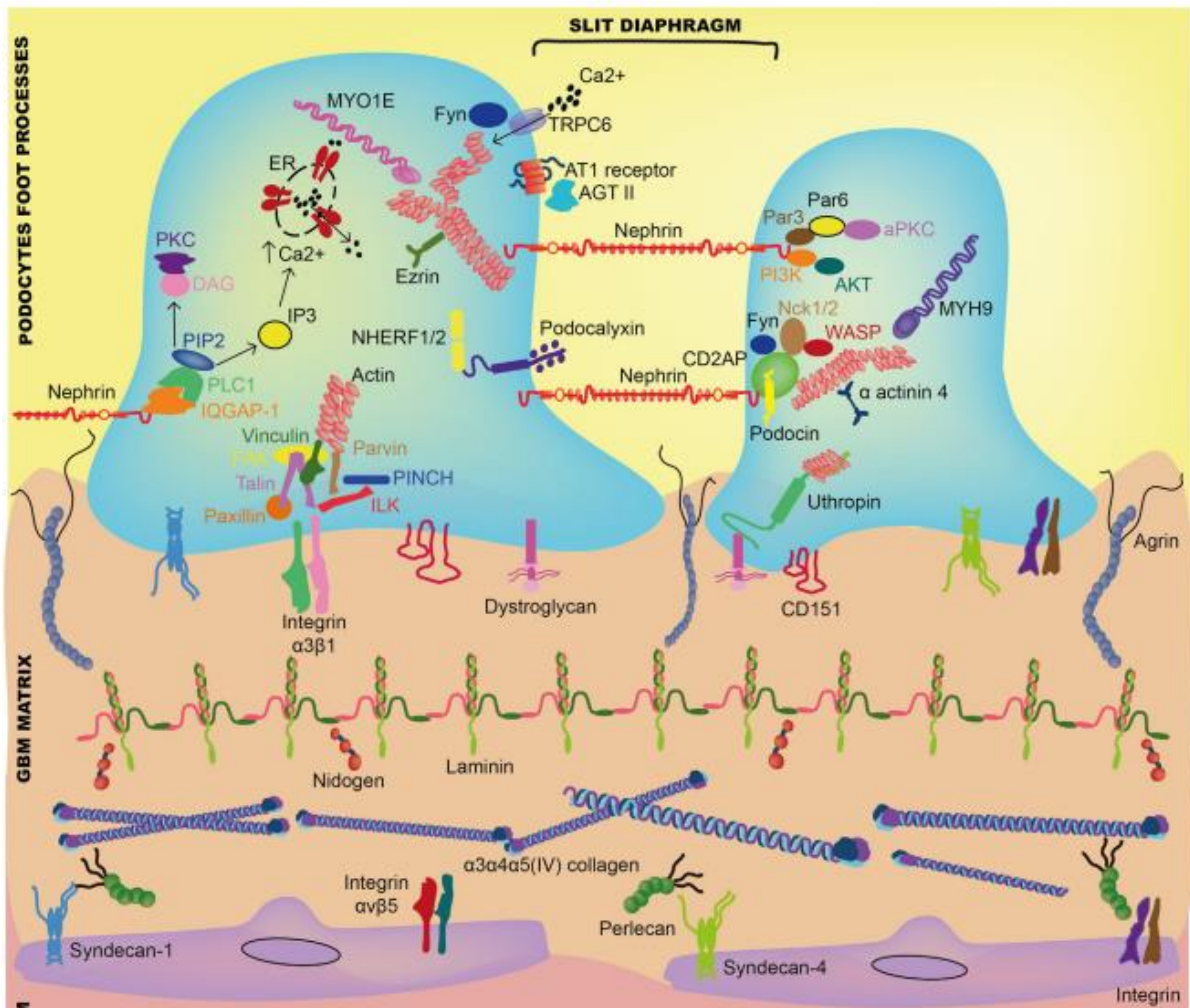
Ένα πολύπλοκο σύστημα “αγκυροβόλησης” συνδέει τον κυτταροσκελετό των FP με τη GBM. Δύο συστήματα είναι γνωστά: (1) τα διμερή $\alpha 3\beta 1$ της integrin συνδέουν τις κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες εστιακής προσκόλλησης talin, vinculin και paxillin (σύμπλεγμα TVP) με τις αλυσίδες $\alpha 3$, $\alpha 4$ και $\alpha 5$ του κολλαγόνου τύπου IV και τη

laminin-521 και (2) οι β - α -dystroglycans συνδέουν την κυτταροπλασματική πρωτεΐνη σύνδεσης utrophin με την agrin και την αλυσίδα $\alpha 5$ της laminin στη GBM (Abrahamson, 2012).

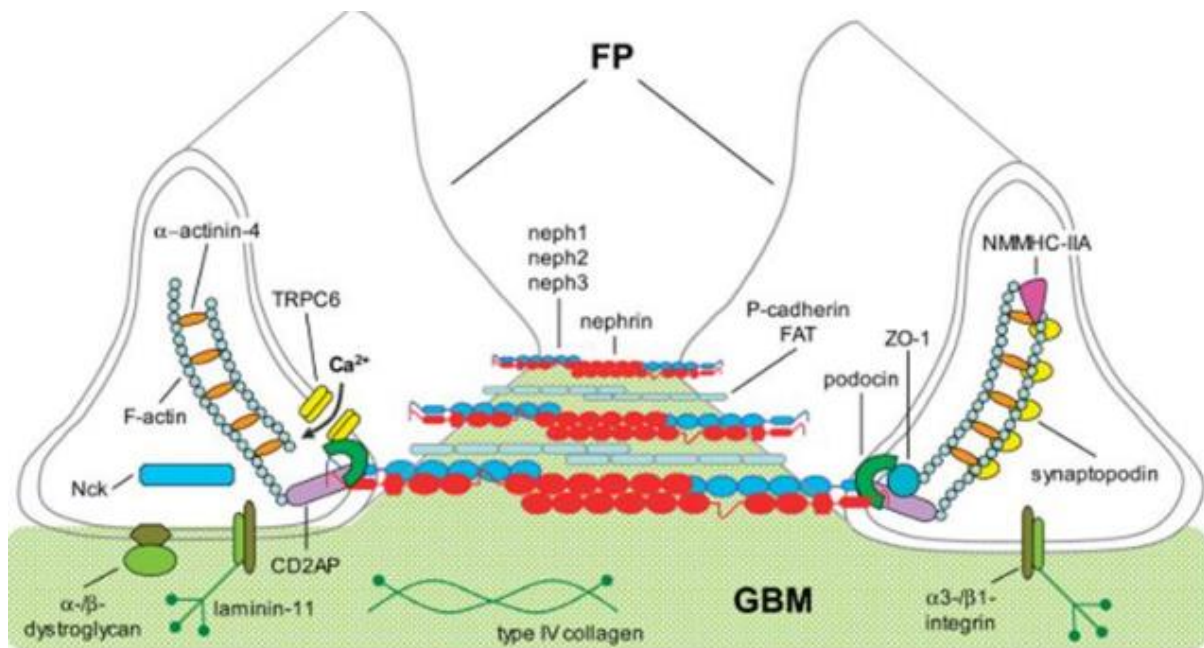
Οι ποδοειδείς προσεκβολές των γειτονικών ποδοκυττάρων διαπλέκονται μεταξύ τους σχηματίζοντας ένα πολύπλοκο δίκτυο που περιβάλλει τα σπειραματικά τριχοειδή, δημιουργώντας παράλληλα μικρές σχισμές εύρους 30-40 nm ανάμεσά τους (διηθητικές σχισμές). Οι σχισμές αυτές γεφυρώνονται μέσω μιας εξωκυττάριας δομής που ονομάζεται σχισμοειδές διάφραγμα (slit diaphragm, SD), το οποίο στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μοιάζει με φερμουάρ. Το σχισμοειδές διάφραγμα είναι μια πορώδης πρωτεϊνική μεμβράνη που αποτελείται από νεφρίνη, NEPH1-3, P-cadherin, FAT1 (FAT tumor suppressor homolog 1 ή FAT atypical cadherin 1) και ephrin-B1. Οι πρωτεΐνες του σχισμοειδούς διαφράγματος συνδέονται με τον κυτταροσκελετό μέσω ποικίλων μεσολαβητικών πρωτεϊνών στις οποίες περιλαμβάνονται η ποδοσίνη, η ZO-1 (Zonula Occludens protein 1), η CD2AP (CD2-associated protein), οι MAGI (Membrane-associated guanylate kinase, WW and PDZ domain-containing proteins), οι Nck (non-catalytic region of tyrosine kinase adaptor proteins) και οι κατενίνες (Endlich et al., 2001; Pavenstädt et al., 2003; Kawachi and Fukusumi, 2020).



Εικόνα 4. Ο σπειραματικός διηθητικός φραγμός (εικόνα από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο). Διακρίνονται το ενδοθήλιο με τους ανοιχτούς πόρους (μικρά βέλη), η GBM με την πυκνή στιβάδα και τις δύο αραιές στιβάδες καθώς και οι ποδοειδείς προσεκβολές των ποδοκυττάρων που διαχωρίζονται από διηθητικές σχισμές οι οποίες γεφυρώνονται από λεπτά διαφραγμάτια, τα σχισμοειδή διαφράγματα (μεγάλα βέλη) (Johnson et al., 2018).



Εικόνα 5. Σχηματική απεικόνιση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων που απαρτίζουν τον σπειραματικό διηθητικό φραγμό (Chew and Lennon, 2018).



Εικόνα 6. Σχηματική απεικόνιση δύο γειτονικών ποδοειδών προσεκβολών (FP), του σχισμοειδούς διαφράγματος μέσω του οποίου συνδέονται, του κυτταροσκελετού της ακτίνης και των συνδέσεων με την υποκείμενη GBM (Brenner and Rector, 2008).

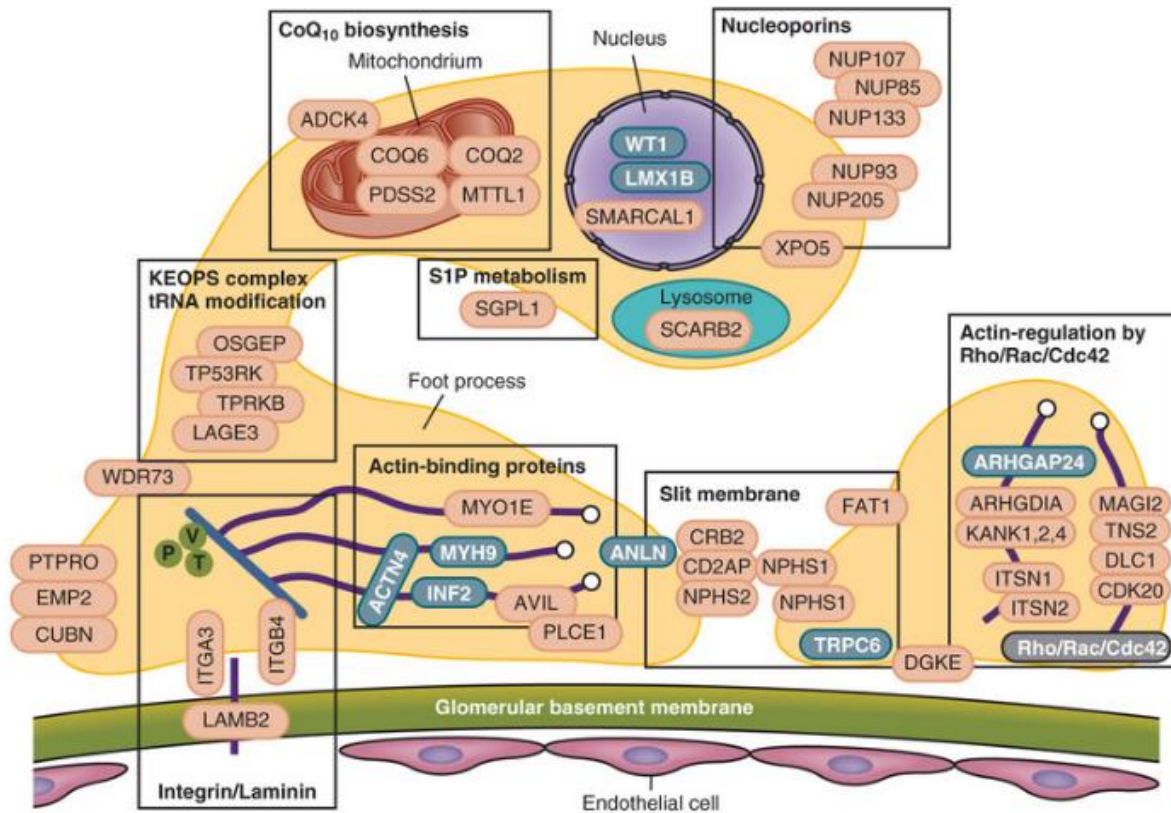
Λειτουργία του σπειραματικού διηθητικού φραγμού

Αυτό το εξειδικευμένο τοίχωμα των τριχοειδών του νεφρικού σπειράματος επιτρέπει την εκλεκτική υπερδιήθηση συγκρατώντας κυκλοφορούντα κύτταρα (π.χ. ερυθρά αιμοσφαίρια) και πρωτεΐνες του πλάσματος. Η διήθηση πραγματοποιείται κατά μήκος μιας εξωκυττάριας οδού, η οποία περιλαμβάνει τους ενδοθηλιακούς πόρους, τη GBM και το σχισμοειδές διάφραγμα. Ο φραγμός διήθησης για τα μακρομόρια είναι εκλεκτικός για το μέγεθος, το σχήμα και το φορτίο τους. Η εκλεκτικότητα του φραγμού για το φορτίο προκύπτει από την πυκνή συσσώρευση αρνητικά φορισμένων μορίων σε όλο το πάχος του, κυρίως από τον γλυκοκάλυκα, ένα στρώμα πλούσιο σε σιαλογλυκοπρωτεΐνες (podocalyxin, podocandin) που καλύπτει την επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και των ποδοκυττάρων και από την υψηλή περιεκτικότητα της GBM σε αρνητικά φορισμένες πρωτεογλυκάνες θειικής ηπαράνης. Οι περισσότερες πρωτεΐνες του πλάσματος, συμπεριλαμβανομένης της αλβουμίνης, είναι αρνητικά φορισμένες και επομένως απωθούνται και φυσιολογικά δε διηθούνται. Η εκλεκτικότητα του διηθητικού φραγμού ως προς το μέγεθος οφείλεται κυρίως στο σχισμοειδές διάφραγμα. Μη φορισμένα μακρομόρια με δραστική ακτίνα έως 1,8 nm

διέρχονται ελεύθερα. Τα μεγαλύτερα συστατικά διέρχονται όλο και λιγότερο, όπως καταδεικνύεται από τις κλασματικές καθάρσεις τους οι οποίες μειώνονται προοδευτικά, ενώ μόρια με δραστική ακτίνα μεγαλύτερη από 4 nm περιορίζονται απόλυτα. Όσον αφορά στην αλβουμίνη, η οποία έχει δραστική ακτίνα 3,6 nm, χωρίς την απώθηση που υφίσταται λόγω του αρνητικού της φορτίου, θα μπορούσε να περάσει από τον φραγμό σε σημαντικές ποσότητες (Pavenstädt et al., 2003; Haraldsson and Jeansson, 2009).

Η σπειραματική διήθηση είναι μια δυναμική διεργασία που απαιτεί ισχυρές δυνάμεις προσκόλλησης, ικανότητα διαρκούς αναπροσαρμογής του σχήματος των FPs αλλά και ελαστικότητα για την αντιμετώπιση της υδραυλικής τάσης των σπειραματικών τριχοειδών. Ο φυσιολογικός φραγμός διήθησης προϋποθέτει ακεραιότητα των συνδέσεων μεταξύ των ποδοκυττάρων στο σχισμοειδές διάφραγμα αλλά και με τη GBM. Εύλογα, λοιπόν, προκύπτει ότι βλάβες στα μόρια που συμμετέχουν στη δημιουργία του σπειραματικού διηθητικού φραγμού διαταράσσουν τη λειτουργία του και επηρεάζουν τη διήθηση. Η διάσπαση του φραγμού εκδηλώνεται σαν πρωτεϊνουρία, συσχετίζεται με απώλεια της φυσιολογικής νεφρικής λειτουργίας και αποτελεί ισχυρό παράγοντα κινδύνου για εξέλιξη σε νεφρική νόσο τελικού σταδίου.

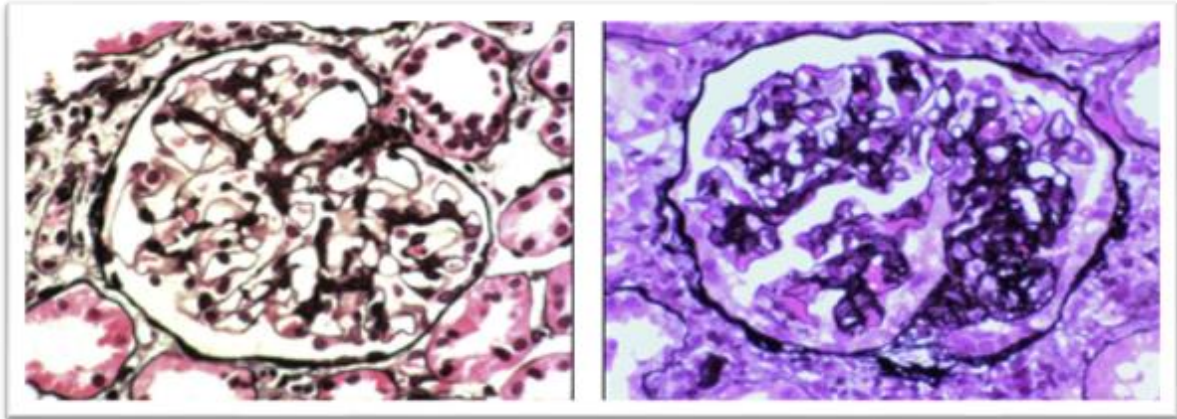
Μέχρι σήμερα, έχουν ταυτοποιηθεί παθογόνες παραλλαγές σε ένα ευρύ φάσμα γονιδίων με λειτουργική σημασία στη σπειραματική διήθηση. Τα γονίδια αυτά μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με τη θέση τους εντός του φραγμού διήθησης. Στα επόμενα κεφάλαια καταδεικνύεται πώς οι εξελίξεις στο πεδίο της γενετικής συνέβαλαν στην ανάδειξη συγκεκριμένων κυτταρικών συστατικών και βιολογικών οδών, οδηγώντας στην κατανόηση της βιολογίας και της παθοφυσιολογίας του νεφρικού σπειράματος.



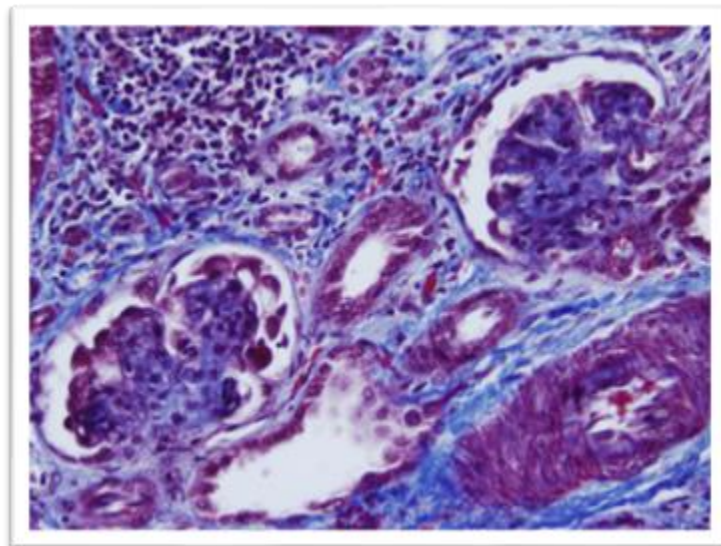
Εικόνα 7. Πρωτεΐνες των οποίων τα γονίδια, αν μεταλλαχθούν, προκαλούν μονογονιδιακό νεφρωσικό σύνδρομο ανθεκτικό στα στεροειδή (SRNS), καθορίζουν βασικές λειτουργίες των ποδοκυττάρων. Σχηματική απεικόνιση ενός ποδοκυττάρου, δύο γειτονικών ποδοειδών προσεκβολών (πορτοκαλί) και του σχισμοειδούς διαφράγματος μέσω του οποίου συνδέονται, αλλά και της περιοχής σύνδεσης με την GBM (πράσινο). Σημειώνονται 44 πρωτεΐνες των οποίων τα γονίδια, εάν μεταλλαχθούν, προκαλούν υπολειπόμενο SRNS (ροζ) και 8 πρωτεΐνες των οποίων τα γονίδια, εάν μεταλλαχθούν, προκαλούν επικρατές SRNS (μπλε) (Johnson et al., 2018).

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΩΝ ΠΟΔΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

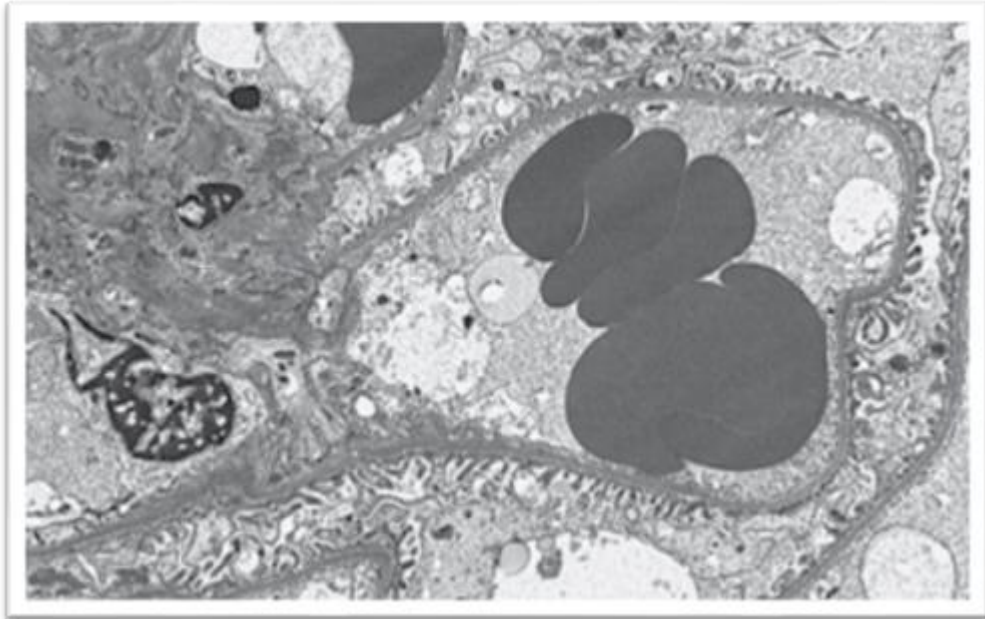
Η κληρονομική δυσλειτουργία των ποδοκυττάρων εκδηλώνεται τυπικά ως νεφρωσικό σύνδρομο, που χαρακτηρίζεται κλινικά από την ακόλουθη τριάδα: πρωτεϊνουρία (>3,5 g/24h), υποαλβουμιναιμία (<30 g/l) και οίδημα. Ανάλογα με την ανταπόκριση ή όχι στη θεραπεία με κορτικοειδή, το νεφρωσικό σύνδρομο ταξινομείται σε κορτικο-ευαίσθητο (steroid-sensitive nephrotic syndrome, SSNS) και κορτικο-ανθεκτικό (steroid-resistant nephrotic syndrome, SRNS). Πολλές γενετικές αιτίες νεφρωσικού συνδρόμου ανήκουν στην κατηγορία του SRNS. Η πρόγνωση για τους ασθενείς με SRNS είναι φτωχή και αναπόφευκτα θα καταλήξουν σε νεφρική ανεπάρκεια. Παρόλο που η βιοψία νεφρού παραμένει ένα σημαντικό κλινικό εργαλείο για την ιστολογική διάγνωση του νεφρωσικού συνδρόμου, η διαθεσιμότητα του γενετικού ελέγχου επέτρεψε την περαιτέρω ταξινόμηση. Συνολικά, το πιο συχνό ιστολογικό πρότυπο που παρατηρείται σε SRNS είναι η εστιακή τμηματική σπειραματοσκλήρυνση (focal segmental glomerulosclerosis, FSGS), που χαρακτηρίζεται από παρουσία σκλήρυνσης σε τμήματα (τμηματική) ενός τουλάχιστον σπειράματος (εστιακή, <50% των σπειραμάτων) σε ολόκληρο το δείγμα της νεφρικής βιοψίας κατά την εξέταση με φωτονικό μικροσκόπιο, ανοσοφθορισμό ή ηλεκτρονικό μικροσκόπιο και επιπλέον χαρακτηρίζεται από απόσυρση και απαλοιφή (effacement) των ποδοειδών προσεκβολών στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Σε SRNS πρώιμης εμφάνισης συχνό ιστολογικό εύρημα είναι η διάχυτη μεσαγγειακή σκλήρυνση (diffuse mesangial sclerosis, DMS), η οποία χαρακτηρίζεται από υπερτροφία των ποδοκυττάρων, μεσαγγειακή υπερπλασία, πάχυνση των βασικών μεμβρανών και μειωμένο μέγεθος των τριχοειδών του σπειράματος (συνήθως είναι σποραδική, αλλά μπορεί να σχετίζεται με κληρονομούμενες μεταλλάξεις στα γονίδια *WT-1*, *LAMB2* και *PLCE1*). Ωστόσο, υπάρχει σημαντική αλληλοεπικάλυψη στην ιστοπαθολογική εικόνα. Τα παραπάνω καταδεικνύουν την ακρίβεια που παρέχει ο γενετικός έλεγχος στην επίτευξη διάγνωσης σε σύγκριση με τις βιοψίες νεφρού, παράλληλα όμως υποδεικνύουν ότι μια σειρά γενετικών ανωμαλιών ακολουθούν δυνητικά παρόμοιους μηχανισμούς βλάβης. Η ανακάλυψη παθογόνων παραλλαγών που προκαλούν SRNS παρέχει σημαντικές πληροφορίες για το ρόλο αυτών των γονιδίων στη φυσιολογική λειτουργία του σπειράματος. Επιπλέον, επιβεβαιώνουν τον καθοριστικό ρόλο του ποδοκυττάρου στη λειτουργία του φραγμού διήθησης καθώς η πλειοψηφία των γονιδίων που σχετίζονται με το SRNS εντοπίζεται στα ποδοκύτταρα (Li et al., 2020).



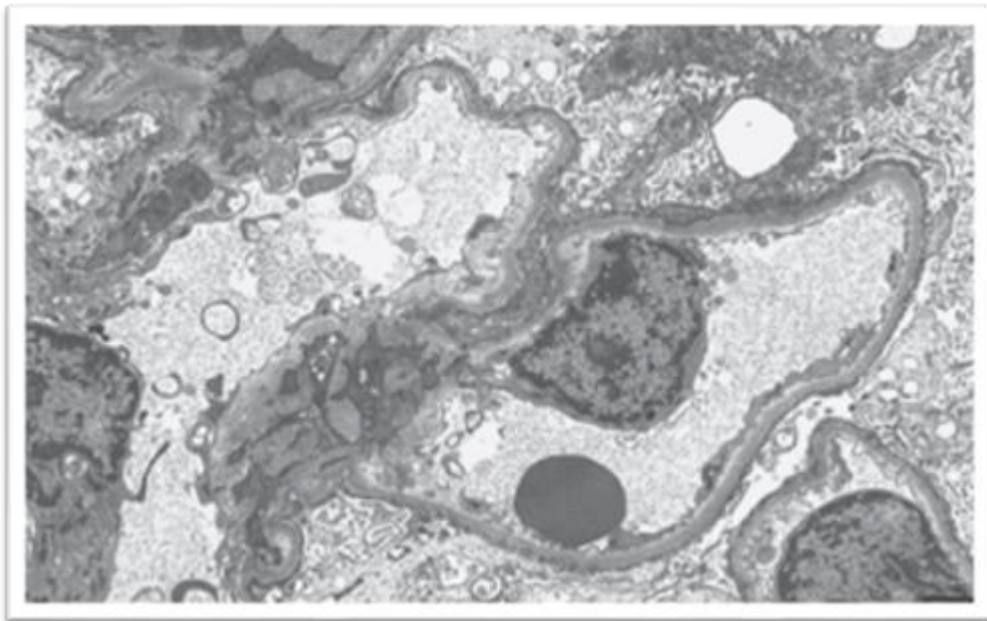
Εικόνα 8. Φωτονικό μικροσκόπιο. Απεικονίζονται ένα φυσιολογικό σπείραμα (αριστερά) και ένα σπείραμα με τμηματική σκλήρυνση (δεξιά) (χρώση Silver) (Fogo et al., 2015).



Εικόνα 9. Φωτονικό μικροσκόπιο. Απεικονίζονται δύο σπειράματα με DMS (χρώση Masson trichrome) (Fogo et al., 2015).



(A)



(B)

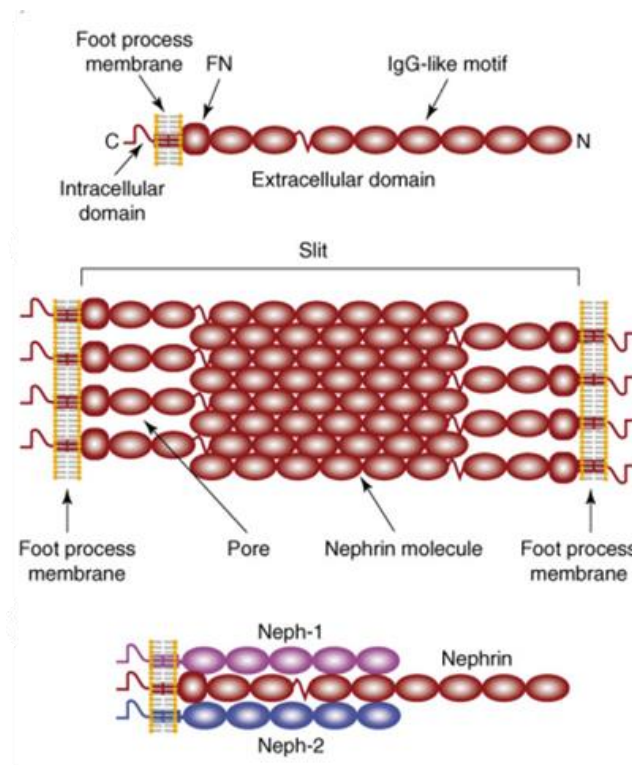
Εικόνα 10. Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. (A) Εικόνα φυσιολογικού σπειράματος με άθικτες ποδοειδείς προσεκβολές. (B) Εικόνα απαλοιφής των ποδοειδών προσεκβολών (effacement) (D'Agati et al., 2011).

ΓΟΝΙΔΙΑ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ ΜΕ ΤΟ ΣΧΙΣΜΟΕΙΔΕΣ ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ

Το γονίδιο *NPHS1*

Το γονίδιο *NPHS1* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 19q13.1 και κωδικοποιεί τη νεφρίνη, μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη που ανήκει στην ευρύτερη οικογένεια των ανοσοσφαιρινών, εκφράζεται ειδικά στα ποδοκύτταρα και αποτελεί βασικό συστατικό του σχισμοειδούς διαφράγματος (Patrakka and Tryggvason, 2007).

Η νεφρίνη ανακαλύφθηκε το 1998. Έχει μοριακό βάρος 185-200 kDa και αποτελείται από ένα μικρό ενδοκυττάριο τμήμα (καρβοξυτελικό), ένα διαμεμβρανικό τμήμα και ένα αρκετά μεγαλύτερο εξωκυττάριο τμήμα μήκους 35 nm, το οποίο περιλαμβάνει μια περιοχή που προσομοιάζει με τη fibronectin type III και οχτώ περιοχές που προσομοιάζουν με IgG. Μόρια νεφρίνης από γειτονικές ποδοειδείς προσεκβολές σχηματίζουν ομοδιμερή, αλληλεπιδρώντας ομοφυλικά μέσω των εξωκυτταρίων IgG τμημάτων τους, αλλά και ετεροδιμερή με τις πρωτεΐνες NERH1 και NERH2, για να δημιουργήσουν την πορώδη δομή σαν φερμουάρ στο σχισμοειδές διάφραγμα (Patrakka and Tryggvason, 2007).



Εικόνα 11. Δομικά χαρακτηριστικά και αλληλεπιδράσεις των μορίων της νεφρίνης (Patrakka and Tryggvason, 2007).

Η νεφρίνη, εκτός της δομικής λειτουργικότητας στο σχισμοειδές διάφραγμα, παίζει σημαντικό ρόλο στα σηματοδοτικά μονοπάτια του ποδοκυττάρου αλληλεπιδρώντας με διάφορες πρωτεΐνες και επιπλέον επιδρά στον κυτταροσκελετό της ακτίνης μέσω μιας πληθώρας μηχανισμών.

Ενδοκυττάρια, η φωσφορυλίωση της νεφρίνης από την τυροσινική κινάση Fyn οδηγεί σε αυξημένη ενεργοποίηση του μονοπατιού PI3K/Akt/Rac, προάγοντας τη δυναμική αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού της ακτίνης. Η νεφρίνη αλληλεπιδρά με την ποδοσίνη και τη CD2AP, μια πρωτεΐνη που συνδέει τη νεφρίνη με τον κυτταροσκελετό της ακτίνης και που επίσης αλληλεπιδρά με το μονοπάτι PI3K/Akt. Επιπλέον, η νεφρίνη αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη IQGAP1 (IQ motif- containing GTPase- activating protein 1), η οποία με τη σειρά της αλληλεπιδρά με τη φωσφολιπάση Cε1 (Li et al., 2020).

Ένας μηχανισμός αγωγής ερεθισμάτων προς τον κυτταροσκελετό των ποδοειδών προσεκβολών, που έχει μελετηθεί εκτενώς *in vitro*, ξεκινά με τη φωσφορυλίωση του ενδοκυττάρου καρβοξυτελικού άκρου της νεφρίνης και τη σύνδεσή του με τη ρυθμιστική πρωτεΐνη Nck. Το σύμπλοκο που προκύπτει συνδέεται στη συνέχεια με τη N- WASP (Neuronal Wiskott- Aldrich syndrome protein), μέσω της οποίας επάγεται ο πολυμερισμός της ακτίνης (Jones et al., 2006; Verma et al., 2006).

Σημειώνεται ότι η νεφρίνη είναι στόχος πολλαπλών γεγονότων φωσφορυλίωσης. Η φωσφορυλίωση κατάλοιπων τυροσίνης της νεφρίνης συμβαίνει παροδικά κατά τη διαφοροποίηση των ποδοκυττάρων, αλλά και ως απάντηση σε τραυματισμό των ποδοκυττάρων (Verma et al., 2006).

Η νεφρίνη επιδρά έμμεσα και στη σύσταση του κυτταροπλάσματος, καθώς αλληλεπιδρά με τον διαμεμβρανικό υποδοχέα TRPC6, ο οποίος λειτουργεί ως δίαυλος ιόντων Ca⁺² και ρυθμίζει το ενδοκυττάριο ασβέστιο (Reiser et al., 2005).

Η αδρανοποίηση του γονιδίου *NPHS1* σε πειραματόζωα οδηγεί σε μαζική πρωτεϊνουρία και νεογνικό θάνατο (Putala et al., 2001).

Μεταλλάξεις του γονιδίου *NPHS1* ευθύνονται για την εμφάνιση του συγγενούς νεφρωσικού συνδρόμου Φινλανδικού τύπου (congenital nephrotic syndrome of the Finnish type, CNF) ή αλλιώς αναφερόμενου ως νεφρωσικό σύνδρομο τύπου 1 (nephrotic syndrome type 1, NPHS1). Η νόσος κληρονομείται με αυτοσωμικό

υπολειπόμενο τρόπο και είναι συχνότερη στη Φινλανδία (περίπου 1/10000 γεννήσεις), ωστόσο έχει περιγραφεί και σε άλλους πληθυσμούς παγκοσμίως (Joshi et al., 2013).

Τα περισσότερα βρέφη με CNF γεννιούνται πρόωρα (35 έως 38 εβδομάδων), με χαμηλό βάρος γέννησης για την ηλικία κύησης, ενώ ο πλακούντας είναι διογκωμένος (>25 % του συνολικού βάρους γέννησης). Το οίδημα είναι παρόν κατά τη γέννηση ή εμφανίζεται κατά τη διάρκεια της πρώτης εβδομάδας της ζωής στο 50% των περιπτώσεων. Βαρύ νεφρωσικό σύνδρομο με εκσεσημασμένο ασκίτη είναι πάντα παρόν μέχρι τον 3ο μήνα. Η λευκωματουρία συνοδεύεται από έκδηλη υποαλβουμιναιμία και σοβαρή υπογαμμασφαιριναιμία. Ως αποτέλεσμα αυτών, η κατάσταση θρέψης και η ανάπτυξη είναι κακές και τα προσβεβλημένα βρέφη είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα σε βακτηριακές λοιμώξεις (περιτονίτιδα, λοιμώξεις του αναπνευστικού) και σε θρομβοεμβολικές επιπλοκές λόγω της σοβαρότητας του νεφρωσικού συνδρόμου, ενώ συχνά εμφανίζουν και υποθυρεοειδισμό. Νεφρική νόσος τελικού σταδίου (End stage renal disease, ESRD) εμφανίζεται συνήθως σε ηλικία 3 – 8 ετών (Tryggvason et al., 2006).

Η εξέταση με φωτονικό μικροσκόπιο σε βιοψίες νεφρού που λαμβάνονται νωρίς στην πορεία του CNF δείχνει ήπια μεσαγγειακή υπερπλασία, ενώ ο ανοσοφθορισμός είναι αρνητικός. Με την πάροδο του χρόνου, παρατηρείται αύξηση του μεσαγγείου που συνοδεύεται από προοδευτική σπειραματοσκλήρυνση. Οι σωληναροδιάμεσες αλλοιώσεις είναι επίσης εμφανείς στο CNF. Η ακανόνιστη μικροκυστική διάταξη των εγγύς σωληναρίων είναι το πιο εντυπωσιακό χαρακτηριστικό, ωστόσο, αυτή η αλλοίωση δεν είναι ειδική και δεν παρατηρείται σε όλους τους ασθενείς. Αργότερα στην πορεία της νόσου, αναπτύσσεται λεμφοκυτταρική και πλασματοκυτταρική διήθηση, σωληναριακή ατροφία και διάμεση ίνωση, παράλληλα με τη σκλήρυνση των σπειραμάτων (Huttunen et al., 1980).

Το CNF δεν ανταποκρίνεται στα κορτικοστεροειδή ή στην ανοσοκατασταλτική θεραπεία και έχει φτωχή πρόγνωση (οι περισσότεροι ασθενείς πεθαίνουν πριν το 1ο έτος κυρίως λόγω λοιμώξεων). Η επιτυχής μεταμόσχευση νεφρού είναι θεραπευτική, αν και υπάρχει κίνδυνος υποτροπής (~20%) μετά τη μεταμόσχευση. Τουλάχιστον οι μισοί από τους ασθενείς που εμφάνισαν υποτροπή είχαν κυκλοφορούντα αντισώματα έναντι της νεφρίνης, τα οποία πιθανώς έχουν παθογενετικό ρόλο στην υποτροπή (Tryggvason et al., 2006; Holmberg and Jalanko, 2014).

Έχουν ταυτοποιηθεί περισσότερες από 200 μεταλλάξεις του γονιδίου *NPHS1*, ωστόσο δύο μεταλλάξεις (Fin- major και Fin- minor) είναι υπεύθυνες για >90% των περιπτώσεων CNF στον Φινλανδικό πληθυσμό. Η μετάλλαξη Fin-major (c.121delCT) προκύπτει από τη διαγραφή 2bp στο εξόνιο 2, που οδηγεί σε πρώιμο κωδικόνιο λήξης, ενώ η Fin-minor (p.R1109X) είναι μια ασυνθετική μετάλλαξη (nonsense mutation) στο εξόνιο 26, που επίσης οδηγεί σε πρώιμο κωδικόνιο λήξης στην κυτταροπλασματική περιοχή της πρωτεΐνης. Και οι δύο αυτές μεταλλάξεις έχουν σαν αποτέλεσμα την απώλεια της νεφρίνης και τη στένωση του σχισμοειδούς διαφράγματος (Joshi et al., 2013).

Εκτός Φινλανδίας, οι δύο κλασικές μεταλλάξεις είναι σπάνιες (Li et al., 2020).

Οι μεταλλάξεις στο *NPHS1* οδηγούν συνήθως σε συγγενές νεφρωσικό σύνδρομο που προσβάλλει τα βρέφη πριν από την ηλικία των 3 μηνών. Σε σπάνιες περιπτώσεις, ομόζυγες μεταλλάξεις όπως η p.R1160X έχουν αναφερθεί σε μη Φινλανδούς ασθενείς με συγγενές νεφρωσικό σύνδρομο με ήπιο φαινότυπο και αυτόματη μερική ή πλήρη ύφεση στην παιδική ηλικία. Λόγω του κομβικού ρόλου της νεφρίνης στο σχισμοειδές διάφραγμα, οι μεταλλάξεις στο *NPHS1* θεωρούνταν ότι οδηγούν μόνο σε συγγενές νεφρωσικό σύνδρομο. Ωστόσο, έχουν αναφερθεί μεταλλάξεις του γονιδίου σε μεγαλύτερα παιδιά με SRNS και σε τουλάχιστον έναν ενήλικα που παρουσίασε FSGS σε ηλικία 27 ετών. Σύνθετες ετερόζυγες ή ομόζυγες μεταλλάξεις του *NPHS1* ανιχνεύθηκαν σε ασθενείς με SRNS και FSGS που η ηλικία τους κυμαινόταν από 8 μήνες έως 7 έτη (Joshi et al., 2013).

Το γονίδιο *NPHS2*

Το γονίδιο *NPHS2* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 1q25-31 και κωδικοποιεί την ποδοσίνη (podocin) (De Vriese et al., 2018).

Η ποδοσίνη είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη μοριακού βάρους 42 kDa, η οποία ανήκει στην οικογένεια των στοματινών και εκφράζεται αποκλειστικά στα ποδοκύτταρα. Εντοπίζεται στις ποδοειδείς προσεκβολές, έχει σχήμα φουρκέτας και τα δύο άκρα της (αμινοτελικό και καρβοξυτελικό) βρίσκονται στην ενδοκυττάρια πλευρά της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Αλληλεπιδρά με τη νεφρίνη, τη CD2AP και τη NEPH1 μέσω του καρβοξυτελικού άκρου της (Caridi et al., 2005).

Σε πειραματικά μοντέλα ποντικών, απενεργοποίηση του γονιδίου *NPHS2* οδηγεί σε συγγενή πρωτεϊνουρία και θάνατο από ουραιμία λίγες μέρες μετά τη γέννησή τους. Τα ποντίκια αυτά παράγουν ούρα αλλά εμφανίζουν βαριά πρωτεϊνουρία κατά τη γέννηση. Η ανάπτυξη των νεφρών είναι φυσιολογική, αλλά κατά την εξέταση με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο απουσιάζουν οι ποδοειδείς προσεκβολές και τα σχισμοειδή διαφράγματα. Επιπλέον, σε αυτό το μοντέλο η νεφρίνη εκφράζεται σε μικρότερες ποσότητες και εντοπίζεται σε απόσταση από τη GBM. Οι παρατηρήσεις αυτές καταδεικνύουν τη σημασία της ποδοσίνης στον σχηματισμό και τη διατήρηση της ακεραιότητας του σχισμοειδούς διαφράγματος (Roselli et al., 2004).

Το γονίδιο *NPHS2* ευθύνεται για μια αυτοσωμικά υπολειπόμενη μορφή οικογενούς FSGS, το νεφρωσικό σύνδρομο τύπου 2 (nephrotic syndrome type 2, *NPHS2*) που αποτελεί μορφή κορτικο-ανθεκτικού νεφρωσικού συνδρόμου (Boute et al., 2000).

Οι μεταλλάξεις του *NPHS2* είναι η συχνότερη αιτία νεφρωσικού συνδρόμου κατά τη διάρκεια του 1ου έτους της ζωής (Joshi et al., 2013).

Οι ασθενείς με FSGS που οφείλονται σε μεταλλάξεις στο *NPHS2* παρουσιάζουν συνήθως νεφρωσικό σύνδρομο πρώιμης έναρξης (ηλικία < 6 ετών). Ωστόσο, ορισμένοι ασθενείς έχουν ηπιότερη νόσο και παρουσιάζονται στην εφηβεία ή τη νεαρή ενήλικη ζωή. Αυτό συναντάται συνήθως σε ασθενείς με υπομορφικές μεταλλάξεις (hypomorphic mutations) - μεταλλάξεις που οδηγούν σε μερική απώλεια της φυσιολογικής λειτουργίας του γονιδίου - καθώς και σε άτομα που φέρουν την κοινή παραλλαγή R229Q σε συνδυασμό με trans- μετάλλαξη στο αμινοτελικό άκρο της ποδοσίνης (Tory et al., 2014).

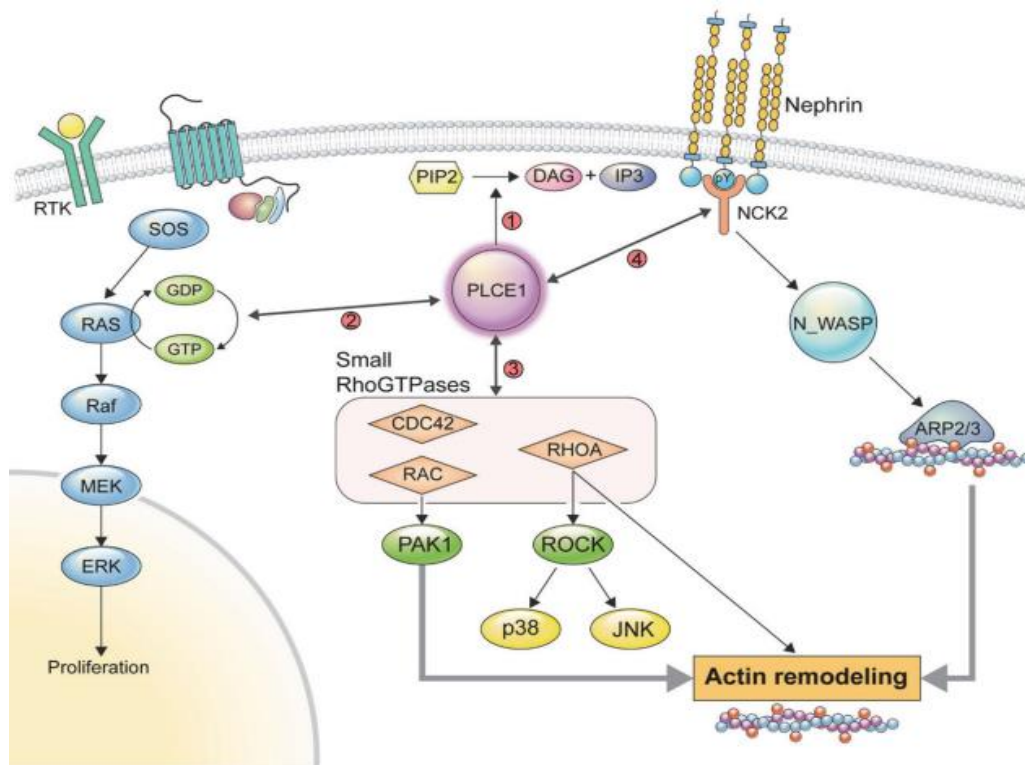
Αν και θα περίμενε κανείς ότι οι ασθενείς με μεταλλάξεις του *NPHS2* δεν θα εμφάνιζαν υποτροπή μετά τη μεταμόσχευση, έχουν περιγραφεί περιπτώσεις υποτροπής (Weber et al., 2004; Becker-Cohen et al., 2007).

Το γονίδιο *PLCE1*

Το γονίδιο *PLCE1* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 10q23.33 και κωδικοποιεί την φωσφολιπάση Cε1 (PLCε1) (De Vriese et al., 2018).

Η PLCε1 καταλύει την υδρόλυση της 4,5-διφωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP2) - ενός φωσφολιπιδίου που βρίσκεται

στις κυτταρικές μεμβράνες- και οδηγεί στην παραγωγή δύο δευτέρων αγγελιαφόρων: της 1,4,5-τριφωσφορικής ινοσιτόλης (inositol 1,4,5-triphosphate, IP3)- ενός διαλυτού μορίου που μπορεί να διαχέεται δια μέσου της μεμβράνης και μέσω της σύνδεσης με τον υποδοχέα της ανοίγει διαύλους για την απελευθέρωση ενδοκυττάριου ασβεστίου- και της διακυλογλυκερόλης (diacylglycerol, DAG), η οποία παραμένει στη μεμβράνη και ενεργοποιεί ένα μεγάλο εύρος στόχων όπως την πρωτεϊνική κινάση C (protein kinase C, PKC), η οποία με τη σειρά της φωσφορυλιώνει κατάλοιπα σερίνης και θρεονίνης σε πολλές πρωτεΐνες-στόχους, αλλά και τους κατιοντικούς διαύλους TRPC 3/6/7 (transient receptor potential cation channel, subfamily C, TRPC), που συμβάλλουν στη ρύθμιση της συγκέντρωσης του ενδοκυττάριου ασβεστίου. Εν ολίγοις, τα δύο αυτά μόρια ξεκινούν έναν καταρράκτη ενδοκυττάριων απαντήσεων που έχουν σαν αποτέλεσμα την κυτταρική ανάπτυξη, την κυτταρική διαφοροποίηση και τη γονιδιακή έκφραση (Hinkes et al., 2006).



Εικόνα 12. Λειτουργίες της PCLE1 στα ποδοκύτταρα (Yu et al., 2020).

Ο ρόλος της PLCε1 στη λειτουργία του σπειράματος καταδείχθηκε σε πείραμα με εξάλειψη του *PLCE1* σε ψάρια (knock-out zebrafish). Τα ψάρια αυτά εμφάνισαν οίδημα την 4η ημέρα ζωής και παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά νεφρωσικού συνδρόμου στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (απαλοιφή ποδοειδών προσεκβολών, αποδιοργάνωση των σχισμοειδών διαφραγμάτων) (Hinkes et al., 2006).

Truncating παραλλαγές του *PLCE1*, που οδηγούν σε παραγωγή κολοβωμένης πρωτεΐνης και περιλαμβάνουν τόσο nonsense μεταλλάξεις, όσο και μεταλλάξεις μετατόπισης του πλαισίου ανάγνωσης (frameshift), προκαλούν νεφρωσικό σύνδρομο πρώιμης έναρξης (μέχρι το 4ο έτος), ταχεία εξέλιξη σε ESRD πριν την ηλικία των 5 ετών και ιστολογικά χαρακτηριστικά DMS. Αντίθετα, δυσυνθετικές (missense) μεταλλάξεις στο εξόνιο που κωδικοποιεί τον καταλυτικό τομέα της PLCε1 έχουν συσχετιστεί με εμφάνιση νεφρωσικού συνδρόμου σε μεγαλύτερη ηλικία, βραδύτερη εξέλιξη σε ESRD και ιστολογικά χαρακτηριστικά FSGS. Κάποιοι ασθενείς με παραλλαγές του *PLCE1* ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία με κορτικοειδή ή κυκλοσπορίνη (Hinkes et al., 2006).

Ο ρόλος της PLCε1 στα ποδοκύτταρα και ο παθογενετικός μηχανισμός του νεφρωσικού συνδρόμου από μετάλλαξη του *PLCE1* δεν είναι πλήρως κατανοητά ακόμη. Εκτός από την υδρόλυση της PIP₂, η PLCε1 φαίνεται ότι διαδραματίζει και άλλους ρόλους στα ποδοκύτταρα. Μπορεί να ενεργοποιηθεί από μια G-πρωτεΐνη και μέσω της δραστηριότητας RasGEF (Ras guanine nucleotide exchange factors) που διαθέτει, να ενεργοποιήσει το σηματοδοτικό μονοπάτι Ras/Raf/MAPK, διεγείροντας έτσι τον πολλαπλασιασμό των ποδοκυττάρων. Επίσης, η PLCε1 ρυθμίζει τη δραστηριότητα των Rho GTPασών, οι οποίες είναι οι βασικοί ρυθμιστές της αναδιοργάνωσης του κυτταροσκελετού και της κυτταρικής μετανάστευσης. Τέλος, η PLCε1 αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη Nck2, η οποία διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη διέγερση της N-WASP-Arp2/3-επαγόμενης εμπυρήνωσης της ακτίνης (N-WASP-Arp2/3-induced actin nucleation) αλλά και μέσω της Nck2 αλληλεπιδρά με τη νεφρίνη (Yu et al., 2020).

Το γονίδιο *TRPC6*

Το γονίδιο *TRPC6* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 11q22.1 και κωδικοποιεί τον TRPC6 (transient receptor potential cation channel subfamily C member 6) (De Vriese et al., 2018).

Ο TRPC6 είναι ένας διάυλος ασβεστίου που ανήκει σε μια υπεροικογένεια ιοντικών διαύλων, οι οποίοι είναι γνωστοί ως παροδικοί διάυλοι που λειτουργούν με υποδοχείς (transient receptor potential channels, TRP channels). Οι διάυλοι TRP συμμετέχουν σε διάφορες βιολογικές διεργασίες που περιλαμβάνουν την κυτταρική ανάπτυξη, τη μηχανική αντίληψη (mechanosensation), την αγγειορρύθμιση και την είσοδο κατιόντων στα κύτταρα. Ο TRPC6 εκφράζεται στα ποδοκύτταρα, εντοπίζεται στη μεμβράνη των ποδοειδών προσεκβολών και αλληλεπιδρά με τη νεφρίνη και την ποδοσίνη. Οι μεταβολές στη ροή ασβεστίου μέσω του TRPC6 φαίνεται να αποτελούν τη βάση της σωστής δομής και λειτουργίας των ποδοκυττάρων. Ο TRPC6 σχετίζεται ακόμα με τη μεσολαβούμενη από την αγγειοτενσίνη II- εισροή Ca^{+2} και απόπτωση που οδηγεί σε απώλεια ποδοκυττάρων. Μια missense μετάλλαξη στο εξόνιο 2, η P112Q, που αφορά στην αλλαγή μιας προλίνης με μια γλουταμίνη στη θέση 112, έχει ως αποτέλεσμα κέρδος λειτουργίας (gain of function) που οδηγεί σε αυξημένη εισροή Ca^{+2} προκαλώντας πιθανώς σπειραματική δυσλειτουργία. Η νόσος αυτή κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τύπο και εκδηλώνεται στην 3η και 4η δεκαετία της ζωής. Το 60% των προσβεβλημένων ατόμων θα καταλήξει σε ESRD μέσα σε 10 έτη. Μεταλλάξεις του *TRPC6* έχουν πλέον τεκμηριωθεί τόσο σε άτομα με οικογενή FSGS όσο και σε σποραδικές περιπτώσεις (Winn et al., 2005; Reiser et al., 2005).

Οι μεταλλάξεις του *TRPC6* που σχετίζονται με FSGS έχει αποδειχθεί ότι ενεργοποιούν το μονοπάτι calcineurin/NFAT (nuclear factor of activated T cells), δράση που μπορεί να ανασταλεί από αναστολείς calcineurίνης (calcineurin inhibitors, CNIs) (Schlöndorff et al., 2009). Απαιτούνται πρόσθετες μελέτες για τη διερεύνηση του ρόλου των CNIs στη θεραπεία της FSGS που σχετίζεται με μεταλλάξεις του *TRPC6*.

Η αυξημένη εισροή ασβεστίου φαίνεται να είναι βασικός παράγοντας πρόκλησης βλάβης στα ποδοκύτταρα σε ποικίλες καταστάσεις (FSGS, νεφρωσικό σύνδρομο, διαβητική νεφροπάθεια). Παραλλαγές και σε άλλα γονίδια όπως τα *NPHS2*, *ACTN4*, *INF2* και *APOL1* μπορούν επίσης να οδηγήσουν σε υπερφόρτωση ασβεστίου και

βλάβη στο ποδοκύτταρο, πιθανώς μέσω ενεργοποίησης του TRPC6 (Ilatovskaya et al., 2015).

Το γονίδιο *CD2AP*

Το γονίδιο *CD2AP* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 6p12.3 και κωδικοποιεί την πρωτεΐνη CD2AP (CD2-associated protein) (De Vriese et al., 2018).

Η CD2AP κλωνοποιήθηκε αρχικά ως πρωτεΐνη που αλληλεπιδρά με την κυτταροπλασματική περιοχή του CD2, μιας μεμβρανικής πρωτεΐνης ειδικής για τα T λεμφοκύτταρα και τα κύτταρα φυσικούς-φονείς (natural killer cells, NK). Εκφράζεται σε διάφορους ιστούς συμπεριλαμβανομένου του εγκεφάλου. Περιέχει τρεις SH3 περιοχές (Src Homology 3 domains) στο αμινοτελικό άκρο που ακολουθούνται από μια περιοχή πλούσια σε προλίνη και μια δομική περιοχή σπειροειδούς σπειράματος (coiled-coil, CC) - ιδιαίτερα σταθερή ραβδοειδής πρωτεϊνική δομή που δημιουργείται από δύο α-έλικες που περιελίσσονται η μία γύρω από την άλλη - στο καρβοξυτελικό άκρο. Στο νεφρό, εκφράζεται κυρίως στα ποδοκύτταρα, στο εγγύς εσπειραμένο και στο αθροιστικό σωληνάριο (Grunkemeyer et al., 2005).

Η CD2AP παίζει ρόλο στην αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού, στην κυτταρική επιβίωση και στην ενδοκυττάρωση. Το καρβοξυτελικό άκρο της CD2AP αλληλεπιδρά άμεσα με την κυτταροσκελετική πρωτεΐνη F-actin και τη συναπτοποδίνη, μια πρωτεΐνη που ρυθμίζει τη δημιουργία δεσμίδων F-actin, μέσω της αλληλεπίδρασής της με την α-actinin-4. Στο σχισμοειδές διάφραγμα, η CD2AP αλληλεπιδρά με τη νεφρίνη και την ποδοσίνη και χρησιμεύει ως συνδετικός κρίκος που αγκιστρώνει τις πρωτεΐνες του σχισμοειδούς διαφράγματος στον κυτταροσκελετό της ακτίνης των ποδοκυττάρων (Shih et al., 2001; Löwik et al., 2007).

Τα ποντίκια με πλήρη έλλειψη της *Cd2ap* (το ομόλογο για τα ποντίκια μόριο με την ανθρώπινη CD2AP) (*Cd2ap*^{-/-}) αναπτύσσουν νεφρική ανεπάρκεια και νεφρωσικό σύνδρομο περίπου 4 εβδομάδες μετά τη γέννηση και πεθαίνουν σε ηλικία περίπου 6 εβδομάδων. Ήδη την 1η εβδομάδα τα σπειράματα ήταν αυξημένα σε μέγεθος και κυτταρικότητα (υπερπλασία μεσαγγειακών κυττάρων και σπειραματοσκλήρυνση) και η εξέταση με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έδειξε εκτεταμένη απαλοϊφή των ποδοειδών προσεκβολών. Τα ποντίκια με μερική έλλειψη της *Cd2ap* (*Cd2ap*^{+/-}) δεν παρουσίασαν πρωτεϊνουρία, αλλά είχαν αυξημένη ευαισθησία στη σπειραματική βλάβη από

ανοσοσυμπλέγματα και νεφροτοξικά αντισώματα. Στην ηλικία των 9 μηνών, όμως, εμφάνισαν σπειραματικές βλάβες με αύξηση του μεσαγγείου. Ορισμένες αλλοιώσεις ήταν παρόμοιες με την ανθρώπινη FSGS και για το λόγο αυτό ασθενείς με πρωτοπαθή FSGS εξετάστηκαν για μεταλλάξεις στο γονίδιο *CD2AP* (Löwik et al., 2009).

Μεταλλάξεις του γονιδίου *CD2AP* συνδέονται με σποραδικό νεφρωσικό σύνδρομο και FSGS στον άνθρωπο (Gigante et al., 2009).

Μέχρι στιγμής, έχουν αναφερθεί ~10 μεταλλάξεις του *CD2AP* σε ασθενείς με FSGS ή νεφρωσικό σύνδρομο. Η σημασία του *CD2AP* στη νεφροπαθολογία στους ανθρώπους παραμένει ακόμη σε μεγάλο βαθμό άγνωστη και οι μοριακοί μηχανισμοί που εμπλέκονται απαιτούν περαιτέρω έρευνα, ωστόσο φαίνεται ότι οι παραλλαγές του γονιδίου *CD2AP* είναι σημαντικές στην FSGS (Liu et al., 2021).

Τέλος, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η *CD2AP* εμπλέκεται στην παθογένεια της νόσου Alzheimer (Tao et. al., 2019).

Τα γονίδια *KIRREL*

Τα γονίδια *KIRREL* (Kirre Like Nephrin Family Adhesion Molecule) κωδικοποιούν την οικογένεια των πρωτεϊνών που προσομοιάζουν στη νεφρίνη (nephrin-like proteins, NEPH), η οποία περιλαμβάνει τρεις διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, τις NEPH1, NEPH2 και NEPH3 (ή φιλτρίνη). Συγκεκριμένα, το γονίδιο *KIRREL1* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 1q23.1 και κωδικοποιεί τη NEPH1, το γονίδιο *KIRREL2* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 19q13.12 και κωδικοποιεί τη NEPH3 και το γονίδιο *KIRREL3* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 11q24.2 και κωδικοποιεί τη NEPH2.

Η οικογένεια των πρωτεϊνών NEPH συμμετέχει στο σχηματισμό ετεροδιμερών με τη νεφρίνη αλλά και ομοδιμερών μεταξύ τους (Gerke et. al., 2003).

Η NEPH1 και η NEPH2 αλληλεπιδρούν άμεσα με τη νεφρίνη και τη ZO-1, ενώ η αλληλεπίδραση μεταξύ νεφρίνης και NEPH1 είναι ένας καθοριστικός παράγοντας της διαπερατότητας του σπειράματος (Liu et al., 2003).

Οι κυτταροπλασματικές περιοχές των NEPH1, NEPH2 και NEPH3 αλληλεπιδρούν με το καρβοξυτελικό άκρο της ποδοσίνης (Sellin et al., 2003).

Επιπλέον, το σύμπλεγμα νεφρίνης - NEPH1 προάγει τον πολυμερισμό της ακτίνης (Garg et al., 2007).

Η μειωμένη έκφραση της φιλτρίνης σε βιοψίες ασθενών με επίκτητη σπειραματοπάθεια υποδηλώνει πιθανή εμπλοκή της στην παθογένεια των πρωτεϊνουρικών νόσων (Ihalmo et al., 2007).

Μεταλλάξεις των γονιδίων *KIRREL1* και *KIRREL2* έχουν βρεθεί σε παιδιά με κορτικο-ανθεκτικό νεφρωσικό σύνδρομο (Solanki et al., 2019; Li et al., 2019).

Το γονίδιο *MAGI2*

Το γονίδιο *MAGI2* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 7q21.11 και κωδικοποιεί την πρωτεΐνη *MAGI2* (Membrane-associated guanylate kinase, WW and PDZ domain-containing protein 2 ή membrane-associated guanylate kinase inverted 2) (De Vriese et al., 2018).

Στο νεφρικό σπείραμα, η *MAGI2* εκφράζεται αποκλειστικά στα ποδοκύτταρα, όπου αλληλεπιδρά με τη νεφρίνη στο σχισμοειδές διάφραγμα και είναι απαραίτητη για την ακεραιότητα του σπειραματικού διηθητικού φραγμού και την επιβίωση των ποδοκυττάρων. Τα ποντίκια με απενεργοποίηση του γονιδίου *MAGI2* παρουσίασαν προοδευτική πρωτεϊνουρία ήδη από τη 2η εβδομάδα μετά τη γέννηση, η οποία συνέπεσε με την απώλεια της έκφρασης της νεφρίνης στα σπειράματα. Η ιστολογική εξέταση ανέδειξε διάχυτη απαλοιφή των ποδοειδών προσεκβολών και εστιακή υπερτροφία των ποδοκυττάρων έως την 3η εβδομάδα, καθώς και προοδευτική απώλεια ποδοκυττάρων. Μέχρι τις 5½ εβδομάδες, οπότε και διαπιστώθηκε σχεδόν πλήρης απώλεια ποδοκυττάρων, τα ποντίκια αυτά ανέπτυξαν διάχυτη εξωτριχοειδική υπερπλασία και τελικά πέθαναν από νεφρική ανεπάρκεια σε ηλικία 3 μηνών. Όπως επιβεβαιώθηκε με ανοσοϊστοχημική ανάλυση, οι πληθυσμοί των πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων στα σπειράματα αποτελούνταν αποκλειστικά από ενεργοποιημένα τοιχωματικά επιθηλιακά κύτταρα (parietal epithelial cells, PECs) (Balbas et al., 2014).

Επιπλέον, η *MAGI2* παίζει ρόλο στην RhoA-εξαρτώμενη ρύθμιση του κυτταροσκελετού της ακτίνης. Παραλλαγές του γονιδίου *MAGI2* προκαλούν συγγενές νεφρωσικό σύνδρομο. Σε μελέτη 187 ασθενών με SRNS στην παιδική ηλικία που υποβλήθηκαν σε WES, ανιχνεύθηκαν τρεις καινούριες παθολογικές μεταλλάξεις του *MAGI2*.

Συγκεκριμένα, σε 2 αδελφές (ασθενείς 175 και 175S), των οποίων οι γονείς ήταν συγγενείς εξ αίματος, εντοπίστηκε μια ομόζυγη απαλοιφή 1bp (c.3998delG) στο εξόνιο 22 που οδηγεί σε μετατόπιση του πλαισίου ανάγνωσης και παραβίαση του κωδικονίου τερματισμού (readthrough) (Gly1333Alafs*141). Σε έναν ασθενή με σποραδικό SRNS (ασθενής 180) διαπιστώθηκε σύνθετη ετεροζυγωτία: μια απαλοιφή 8bp (c.64_71delAGGAACCC) στο εξόνιο 1 (Arg22Glyfs*7) (πατρικής προέλευσης) και ένας διπλασιασμός 8bp (c.3526_3533dupCTGGCAGA) στο εξόνιο 20 (Glu1178Aspfs*9) (μητρικής προέλευσης). Και οι δύο μεταλλάξεις εντοπίστηκαν στις περιοχές PDZ και οδηγούσαν σε μετατόπιση του πλαισίου ανάγνωσης και πρόωρο κωδικόνιο τερματισμού (Bierzynska et al., 2017).

ΓΟΝΙΔΙΑ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ ΜΕ ΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΤΩΝ ΠΟΔΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Το γονίδιο *PODXL*

Το γονίδιο *PODXL* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 7q32.3 και κωδικοποιεί την ποδοκαλυξίνη (podocalyxin, *PODXL*) (De Vriese et al., 2018).

Η ποδοκαλυξίνη είναι μια διαμεμβρανική σιαλογλυκοπρωτεΐνη που εντοπίζεται στην κορυφαία περιοχή της κυτταρικής μεμβράνης των ποδοκυττάρων, αποτελεί κύριο συστατικό του γλυκοκάλυκα και συμβάλλει στην εκλεκτικότητα του διηθητικού φραγμού ως προς το φορτίο. Το ενδοκυττάριο τμήμα της ποδοκαλυξίνης συνδέεται με τον κυτταροσκελετό της ακτίνης μέσω της εζρίνης (ezrin) και της πρωτεΐνης NHERF2 (Na⁺/H⁺ exchange regulatory cofactor 2), συμβάλλοντας έτσι στη διατήρηση της χαρακτηριστικής αρχιτεκτονικής των ποδοκυττάρων. Το εξωκυττάριο τμήμα της έχει αντι-προσκολλητικές ιδιότητες, που κατά κύριο λόγο οφείλεται στο γεγονός ότι είναι αρνητικά φορτισμένο. Εμποδίζει την προσκόλληση των γειτονικών ποδοειδών προσεκβολών καθώς και των ποδοκυττάρων με τα γειτονικά τοιχωματικά επιθηλιακά κύτταρα, διατηρώντας έτσι το άνοιγμα του σχισμοειδούς διαφράγματος και του ουροφόρου χώρου (Orlando et al., 2001; Takeda et al., 2001).

Μεταβολές στην έκφραση και λειτουργία της ποδοκαλυξίνης μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στα ποδοκύτταρα και ποδοκυττοπάθειες. Ποντίκια με έλλειψη της ποδοκαλυξίνης (*PODXL*^{-/-}) πέθαναν εντός 24 ωρών από τη γέννηση λόγω ανουρικής νεφρικής ανεπάρκειας η οποία προκλήθηκε από την πλήρη απώλεια των ποδοειδών προσεκβολών και του σχισμοειδούς διαφράγματος. Επιπλέον, τα ποντίκια αυτά εμφανίζουν συχνά ομφαλοκήλη, γεγονός που υποδηλώνει ότι η ποδοκαλυξίνη μπορεί να απαιτείται για την επαναφορά της εντερικής αγκύλης μέσω του ομφαλικού δακτυλίου κατά την εμβρυογένεση (Doyonnas et al., 2001).

Η απώλεια της ποδοκαλυξίνης προκαλεί έναν νέο συνδρομικό τύπο συγγενούς νεφρωσικού συνδρόμου. Το 2017 παρουσιάστηκε ασθενής με συγγενές νεφρωσικό σύνδρομο, ομφαλοκήλη και μικροκορία λόγω δύο διαφορετικών μεταλλάξεων στο *PODXL* - μία missense μετάλλαξη στο κωδικόνιο έναρξης από τον πατέρα και μία nonsense μετάλλαξη από τη μητέρα (σύνθετη ετεροζυγωτία). Και οι δύο μεταλλάξεις οδηγούν σε απώλεια λειτουργίας της πρωτεΐνης (Kang et al., 2017).

Παραλλαγές του *PODXL* που κληρονομούνται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο προκαλούν κορτικο-ανθεκτικό νεφρωσικό σύνδρομο με ηλικία έναρξης που ποικίλλει από την εφηβεία έως την ενήλικη ζωή και ατελή διεισδυτικότητα της νόσου (Barua et al., 2014).

Τέλος, σχετικά πρόσφατα, με τη χρήση WES αναγνωρίστηκαν δύο καινούριες ετερόζυγες nonsense μεταλλάξεις του γονιδίου (c.C976T; p. Arg326X και c.C1133G; p.Ser378X) σε ασθενείς με οικογενή FSGS και αυτοσωμικό επικρατή τύπο κληρονομικότητας. Η παθογόνος επίδραση των μεταλλάξεων αυτών σχετίζεται πιθανώς με το σύστημα αποδόμησης ασυνθετικών RNA (nonsense-mediated mRNA decay, NMD) με αποτέλεσμα ανεπάρκεια της ποδοκαλυξίνης (Lin et al., 2019).

Το γονίδιο *PTPRO*

Το γονίδιο *PTPRO* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 12p13-p12 και κωδικοποιεί την PTPRO (Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type O) (De Vriese et al., 2018).

Η PTPRO, γνωστή και ως GLEPP1 (glomerular epithelial protein 1), είναι μια πρωτεΐνη με δραστηριότητα φωσφατάσης τυροσίνης, που εντοπίζεται στην κορυφαία περιοχή της κυτταρικής μεμβράνης των ποδοκυττάρων. Η φωσφορυλίωση σε κατάλοιπα τυροσίνης της νεφρίνης και της ZO-1, μεταβάλλει τη σύνδεσή τους με άλλες πρωτεΐνες του σχισμοειδούς διαφράγματος, συμβάλλοντας, έτσι, στη διατήρηση της δομής των ποδοκυττάρων. Τα ποντίκια στα οποία απουσιάζει η πρωτεΐνη αυτή εμφανίζουν δομικές αλλαγές των ποδοκυττάρων (αμοιβαδοειδής μορφολογία, αποπλάτυση ποδοειδών προσεκβολών) και χαμηλό GFR. Απώλεια της έκφρασης της PTPRO έχει παρατηρηθεί σε διάφορες πρωτεϊνουρικές νεφροπάθειες, όπως η πρωτοπαθής FSGS και η σοβαρή IgA νεφροπάθεια. Μεταλλάξεις του γονιδίου *PTPRO* προκαλούν αυτοσωμικό υπολειπόμενο νεφρωσικό σύνδρομο στην παιδική ηλικία, ενώ αξιοσημείωτο είναι ότι, κάποιοι ασθενείς παρουσίασαν μερική ανταπόκριση στη συνδυασμένη θεραπεία με κορτικοστεροειδή και κυκλοσπορίνη (Ozaltin et al., 2011).

Η PTPRO έχει προταθεί μαζί με την συναπτοποδίνη ως έμμεσος δείκτης για την ανταπόκριση της πρωτοπαθούς FSGS στη θεραπεία με κορτικοειδή (Hirakawa et al., 2006).

Το γονίδιο *EMP2*

Το γονίδιο *EMP2* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 16p13.2 και κωδικοποιεί την *EMP2* (epithelial membrane protein 2), μια πρωτεΐνη που ρυθμίζει την έκφραση της caveolin-1 (De Vriese et al., 2018).

Η caveolin-1 είναι το βασικό δομικό συστατικό των caveolae (περιοχές της κυτταροπλασματικής μεμβράνης που σχηματίζουν εγκολπώσεις κατά τη διάρκεια της ενδοκυττάρωσης). Τα caveolae συμβάλλουν σε πολλές κυτταρικές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της ενδοκυττάρωσης, της κυτταρικής σηματοδότησης και της “διακυττάρωσης” (transcytosis) της χοληστερόλης και της αλβουμίνης (Gee et al., 2014).

Σε 4 ασθενείς από 3 διαφορετικές οικογένειες με νεφρωσικό σύνδρομο στην παιδική ηλικία εντοπίστηκαν ομόζυγες ή σύνθετες ετερόζυγες μεταλλάξεις στο γονίδιο *EMP2*. Οι μεταλλάξεις αυτές προκαλούν μια αυτοσωμική υπολειπόμενη μορφή κορτικοευσθητικού νεφρωσικού συνδρόμου. In vitro, η αποσιώπηση έκφρασης του γονιδίου (knockdown) σε ανθρώπινα ποδοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα είχε ως αποτέλεσμα αυξημένη ποσότητα caveolin-1 και μειωμένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό (Gee et al., 2014).

ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΟΥ

Το γονίδιο *ACTN4*

Το γονίδιο *ACTN4* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 19q13.2 και κωδικοποιεί την α-actinin-4, μια πρωτεΐνη του κυτταροσκελετού που ανήκει στην υπεροικογένεια της σπεκτρίνης (spectrin superfamily) (De Vriese et al., 2018).

Η α-actinin-4 συνδέεται στενά με την F-actin αλλά και με τις πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης. Κύριος ρόλος της είναι η διατήρηση της ακεραιότητας του κυτταροσκελετού και της αλληλεπίδρασης του με την κυτταρική μεμβράνη του ποδοκυττάρου (Kaplan et al., 2000).

Μεταλλάξεις του γονιδίου οδηγούν σε οικογενή FSGS με αυτοσωμικό επικρατή τύπο κληρονομικότητας. Παθογόνες παραλλαγές στην περιοχή σύνδεσης με την ακτίνη (actin-binding domain) αυξάνουν τη συγγένεια σύνδεσης οδηγώντας σε ένα άκαμπτο και πιο εύθραυστο δίκτυο ακτίνης και καθιστώντας το ποδοκύτταρο ευάλωτο σε αποκόλληση από τη GBM υπό την επίδραση μηχανικής καταπόνησης. Επιπλέον, missense μεταλλάξεις του γονιδίου οδηγούν σε ανάπτυξη πρωτεϊνουρίας στη 2η δεκαετία της ζωής και εξέλιξη σε ESRD πριν την ηλικία των 50 ετών (Kaplan et al., 2000; Weins et al., 2005; Feng et al., 2020).

Παρά την ευρεία έκφραση της α-actinin-4 σε ποικίλους ανθρώπινους ιστούς και όργανα, οι μεταλλάξεις του *ACTN4* έχουν παρατηρηθεί κυρίως σε ασθενείς με νεφρική νόσο (Ihalmo et al., 2008).

Το γονίδιο *MYO1E*

Το γονίδιο *MYO1E* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 15q22.2 και κωδικοποιεί τη μυοσίνη 1E (myosin 1E, MYO1E), μια μη μυϊκή μεμβρανική μυοσίνη της τάξης I (De Vriese et al., 2018).

Η MYO1E εκφράζεται κυρίως στη μεμβράνη των ποδοκυττάρων στο νεφρικό σπείραμα. Αποτελεί βασικό συστατικό του κυτταροσκελετού των ποδοκυττάρων που αλληλεπιδρά με το πρωτεϊνικό σύμπλεγμα του σχισμοειδούς διαφράγματος και επιπλέον, είναι ένας μοριακός κινητήρας που βασίζεται στην ακτίνη και εμπλέκεται σε πολλές ενδοκυττάρειες μετακινήσεις και στη μεταφορά ουσιών διαμέσου των

κυτταρικών μεμβρανών (membrane trafficking). Περιέχει μια κεφαλή - κινητήρια περιοχή που δεσμεύει ATP και την F-actin, μια περιοχή αυχένα που δεσμεύει την καλμοδουλίνη και μια ουρά σχετικά μικρού μήκους. Η μυοσίνη I, σε αντίθεση με τη μυοσίνη II, δεν μπορεί να σχηματίσει διμερή ή ινίδια, ούτε μπορεί να προκαλέσει σύσπαση. Όμως, κινείται κατά μήκος των ινιδίων ακτίνης προς το θετικό (+) άκρο (τα ινίδια ακτίνης είναι πολωμένες δομές), μεταφέροντας διάφορα φορτία (όπως μεμβρανικά κυστίδια) που προσδένονται στην περιοχή της ουράς της (Krendel et al., 2009; Mele et al., 2011).

Τα ποντίκια στα οποία είχε αδρανοποιηθεί το γονίδιο *MYO1E* (knockout) ανέπτυξαν πρωτεϊνουρία και αιματουρία, υποδεικνύοντας διαταραχή του σπειραματικού διηθητικού φραγμού, ενώ οι νεφρικές βιοψίες έδειξαν FSGS και διάμεση ίνωση. Αυτές οι βλάβες δεν ήταν παρούσες κατά τη γέννηση, αλλά αναπτύχθηκαν κατά τις πρώτες εβδομάδες της ζωής (Krendel et al., 2009).

Οι μεταλλάξεις του γονιδίου *MYO1E* σχετίζονται με οικογενή FSGS, με έναρξη στην παιδική ηλικία και αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας. Οι ασθενείς με μεταλλάξεις του *MYO1E* και FSGS εμφάνισαν αντίσταση στα κορτικοστεροειδή, αν και τρεις από αυτούς είχαν μερική ανταπόκριση στη θεραπεία με κυκλοσπορίνη (Mele et al., 2011).

Σε πρόσφατη μελέτη, βρέθηκε ότι δύο σημειακές μεταλλάξεις (η T119I και η D388H) στην κινητική περιοχή της *MYO1E* μεταβάλλουν τον εντοπισμό της στα ποδοκύτταρα, διαταράσσουν τη δυναμική του κυτταροσκελετού και επιπλέον επηρεάζουν την πυκνότητα και τον χρόνο ζωής των καλυμμένων με κλαθρίνη κυστιδίων (clathrin-coated vesicles, CCVs) στα ποδοκύτταρα (Liu et al., 2022).

Το γονίδιο *MYH9*

Δεδομένου ότι η ακτίνη χρειάζεται τη μυοσίνη για την κίνησή της, δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι οι μεταλλάξεις που επηρεάζουν τη μυοσίνη μπορούν να προκαλέσουν ασθένειες που μεταβάλλουν τον κυτταροσκελετό της ακτίνης. Εκτός από τις μεταλλάξεις του *MYO1E*, αξιοσημείωτες σε ό,τι αφορά τα ποδοκύτταρα, είναι οι μεταλλάξεις στο γονίδιο *MYH9* (Blaine and Dylewski, 2020).

Το γονίδιο *MYH9* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 22q12.3 και κωδικοποιεί την non-muscle myosin heavy chain IIA (NMMHC-IIA) (Tabibzadeh et al., 2018).

Η μη μυϊκή μυοσίνη τάξης II (non-muscle myosin II, NM II), μια κινητήρια πρωτεΐνη που βασίζεται στην ακτίνη, διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο στην οργάνωση του κυτταροσκελετού της ακτίνης, στη διατήρηση της αρχιτεκτονικής του κυττάρου, στην κυτταρική κινητικότητα και την κυτταροκίνηση (διαίρεση του κυτταροπλάσματος κατά την κυτταρική διαίρεση). Αποτελείται από δύο βαριές αλυσίδες και δύο ζεύγη ελαφρών αλυσίδων. Στα σπονδυλωτά, οι βαριές αλυσίδες της NM II έχουν τρεις ισομορφές, τις IIA, IIB και IIC, οι οποίες κωδικοποιούνται από τρία διαφορετικά γονίδια (*MYH9*, *MYH10* και *MYH14* αντίστοιχα). Η NM IIA έχει δύο σφαιρικές κεφαλές με δράση ΑΤΡάσης και θέσεις σύνδεσης με την ακτίνη στο ένα άκρο και μια επιμήκη ουρά με δομή σπειροειδούς σπειράματος στο άλλο άκρο. Πολυμερή NM IIA συνδέονται με την ακτίνη και σχηματίζουν συσταλτές δομές όπως ινίδια τάσης (He et al., 2013; Brito and Sousa, 2020).

Οι μεταλλάξεις του *MYH9* προκαλούν μια αυτοσωμική επικρατή διαταραχή που είναι γνωστή ως MYH9- σχετιζόμενη νόσος (MYH9- related disease, MYH9-RD). Όλα τα προσβεβλημένα άτομα παρουσιάζουν συγγενείς αιματολογικές αλλοιώσεις (θρομβοπενία, γιγάντια αιμοπετάλια και κοκκιοκυτταρικά έγκλειστα). Οι περισσότεροι ασθενείς αναπτύσσουν κατά τη διάρκεια της ζωής τους μία ή περισσότερες πρόσθετες εξωαιματολογικές εκδηλώσεις, που περιλαμβάνουν τη νευροαισθητήρια βαρηκοΐα, τη νεφρική νόσο (που εκδηλώνεται αρχικά ως σπειραματοπάθεια), τον πρώιμο καταρράκτη και/ή την αύξηση των ηπατικών ενζύμων. Ο όρος MYH9-RD περιλαμβάνει τέσσερα σύνδρομα που θεωρούνταν για πολλά χρόνια ξεχωριστές διαταραχές (ανωμαλία May-Hegglin, σύνδρομο Sebastian, σύνδρομο Fechtner και σύνδρομο Epstein). Μετά την ταυτοποίηση του *MYH9* ως του υπεύθυνου γονιδίου για όλες αυτές τις οντότητες, αναγνωρίστηκε ότι στην πραγματικότητα αντιπροσωπεύουν διαφορετική κλινική έκφραση της ίδιας νόσου (Tabibzadeh et al., 2018).

Σύμφωνα με τις μεγαλύτερες σειρές ασθενών που έχουν δημοσιευτεί, νεφροπάθεια εμφανίζεται στο 25-37% των ασθενών με MYH9- RD, ενώ η ηλικία εμφάνισης ποικίλλει. Η σοβαρότητα της νεφρικής προσβολής είναι ετερογενής, ακόμη και μεταξύ ατόμων που φέρουν την ίδια μετάλλαξη. Παρουσιάζεται συνήθως με λευκωματουρία, ενίοτε νεφρωσικού εύρους, με ή χωρίς μικροσκοπική αιματουρία, και οδηγεί σε χρόνια

νεφρική νόσο και τελικά σε ESRD που απαιτεί θεραπεία νεφρικής υποκατάστασης στο 43% των ασθενών (Tabibzadeh et al., 2018).

Στους περισσότερους ασθενείς, η MYH9-RD οφείλεται σε missense μεταλλάξεις που επηρεάζουν είτε την περιοχή κεφαλής είτε την περιοχή σπειροειδούς σπειράματος στην περιοχή της ουράς και πλήττουν μόνο 21 από τα 1960 κατάλοιπα αμινοξέων της NMMHC-IIA (Pecci et al., 2014).

Οι ασθενείς με τη μετάλλαξη R702 παρουσιάζουν ταχεία έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας με ταυτόχρονη προοδευτική απώλεια ακοής. Η πρωτεϊνουρία ή/και η αιματουρία εμφανίζεται στην πρώιμη βρεφική ηλικία και στην εφηβεία καταλήγουν σε ESRD. Διάφορες μεταλλάξεις του γονιδίου (S96L, R702C, R702H, R1165C και D1424) έχουν συσχετιστεί με την ανάπτυξη νεφρίτιδας. Οι Pecci et al. (2008) έδειξαν ότι μεταλλάξεις στην κινητήρια περιοχή της NMMHC-IIA σχετίζονται με σοβαρή θρομβοπενία και ανάπτυξη νεφρίτιδας και κώφωσης πριν από την ηλικία των 40 ετών, ενώ οι ασθενείς με μεταλλάξεις στην περιοχή της ουράς όχι μόνο έχουν πολύ μικρότερο κίνδυνο ανάπτυξης τέτοιων διαταραχών αλλά και σημαντικά υψηλότερο αριθμό αιμοπεταλίων (Sekine et al., 2010).

Μεταγενέστερη μελέτη συσχέτισης γονοτύπου- φαινοτύπου έδειξε ότι: α) οι μεταλλάξεις που πλήττουν το κατάλοιπο R702 σχετίζονται με τον πιο σοβαρό φαινότυπο και παρουσιάζουν πλήρη διεισδυτικότητα για πρώιμη εμφάνιση ESRD και κώφωση, β) η μετάλλαξη p.D1424H σχετίζεται με υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης όλων των μη συγγενών εκδηλώσεων της νόσου, γ) οι μεταλλάξεις που πλήττουν μια ξεχωριστή υδρόφοβη θέση στην περιοχή κεφαλής της NMMHC-IIA ή οι μεταλλάξεις στο R1165 συσχετίζονται με υψηλό κίνδυνο κώφωσης αλλά χαμηλό κίνδυνο νεφροπάθειας ή καταρράκτη και δ) οι ασθενείς με p.E1841K, p.D1424N και απαλοιφές στο καρβοξυτελικό άκρο έχουν χαμηλό κίνδυνο εμφάνισης μη συγγενών εκδηλώσεων της νόσου (Pecci et al., 2014).

Τα γονίδια *ANLN* και *AVIL*

Χωρίς την κατάλληλη πρόσδεση της ακτίνης, η δυναμική της ακτίνης και της μυοσίνης διαταράσσεται, οδηγώντας σε αναποτελεσματικές συσπάσεις. Οι πρωτεΐνες anillin και advillin, που κωδικοποιούνται αντίστοιχα από τα γονίδια *ANLN* και *AVIL*, είναι και οι δύο πρωτεΐνες που δεσμεύουν την F-actin και είναι απαραίτητες για την κινητικότητα των ποδοκυττάρων. Μεταλλάξεις των γονιδίων αυτών σχετίζονται με νεφρική νόσο. Εκτός από τη λειτουργία δέσμευσης της F-actin, η anillin και η advillin αλληλεπιδρούν επίσης με πρωτεΐνες του σχισμοειδούς διαφράγματος, τη CD2AP και την PLCε1 αντίστοιχα, για τη ρύθμιση και το συντονισμό της κινητικότητας των ποδοκυττάρων, διατηρώντας παράλληλα τον διηθητικό φραγμό (Blaine and Dylewski, 2020).

Το γονίδιο *INF2*

Το γονίδιο *INF2* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 14q32.33 και κωδικοποιεί την inverted formin 2 (*INF2*), μια πρωτεΐνη της οικογένειας της φορμίνης (De Vriese et al., 2018).

Η *INF2* περιλαμβάνει τρεις λειτουργικές περιοχές: τις FH1 και FH2 (formin homology 1 and 2 domains), την DID (diaphanous inhibitory domain) στο αμινοτελικό άκρο και την DAD (diaphanous autoregulatory domain) στο καρβοξυτελικό άκρο (Labat-de-Hoz and Alonso, 2020).

Η *INF2* συμβάλλει στην εμπυρήνωση και την επιμήκυνση των ινιδίων ακτίνης καθώς και στην επιτάχυνση του αποπολυμερισμού της F-actin και την αποσυναρμολόγηση των ινιδίων ακτίνης (Gurel et al., 2014).

Εκτός από το ρόλο της στον πολυμερισμό της ακτίνης, η *INF2* προσδένεται στους μικροσωληνίσκους μέσω της περιοχής FH2 και ρυθμίζει τη σταθερότητα των μικροσωληνίσκων και την ευθυγράμμιση τους με τα ινίδια ακτίνης. Η *INF2* συνδέεται επίσης με τις Rho GTPάσες Cdc42 και Rac1 στην περιοχή DID, αλλά και με την πρωτεΐνη IQGAP1 μέσω του καρβοξυτελικού της άκρου, ενώ η αμινοτελική περιοχή αλληλεπιδρά με την καλμοδουλίνη και μεσολαβεί για την ταχεία αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού της ακτίνης ως απόκριση σε αυξημένα ενδοκυττάρια επίπεδα Ca^{+2} . Η *INF2* αλληλεπιδρά ακόμα με τις πρωτεΐνες MAL και MAL2 (myelin and lymphocyte, T cell differentiation protein), οι οποίες εμπλέκονται μεταξύ άλλων στο σχηματισμό και τη διατήρηση της μυελίνης (Labat-de-Hoz and Alonso, 2020).

Το γονίδιο *INF2* αποτελείται από 23 εξόνια, εκ των οποίων, το εξόνιο 1 είναι το μόνο μη κωδικοποιητικό. Περισσότερες από 60 παθογόνες μεταλλάξεις του γονιδίου είναι γνωστές και όλες έχουν χαρτογραφηθεί σε μια γενωμική περιοχή 4.800bp που περιέχει τα εξόνια 2-6 που κωδικοποιούν την αμινοτελική επέκταση και την περιοχή DID. Οι περισσότερες παθογόνες μεταλλάξεις εντοπίζονται στην περιοχή DID, όπου θα μπορούσαν δυνητικά να μεταβάλουν τη σύνδεσή της με την περιοχή DAD ή να επηρεάσουν τη συσχέτιση της *INF2* με άλλες πρωτεΐνες. Από τις 68 αναφερόμενες παθογόνες μεταλλάξεις στα εξόνια που κωδικοποιούν την περιοχή DID, οι 61 είναι missense (89,7%) (Labat-de-Hoz and Alonso, 2020).

Οι παραλλαγές του γονιδίου *INF2* οδηγούν σε ανώμαλη ρύθμιση της δυναμικής ισορροπίας μεταξύ συναρμολόγησης και αποσυναρμολόγησης της ακτίνης (Labat-de-Hoz and Alonso, 2020).

Οι μεταλλάξεις του γονιδίου *INF2* είναι το συχνότερο μονογονιδιακό αίτιο αυτοσωμικής επικρατούς FSGS και ευθύνονται για το 12-17% των περιπτώσεων αυτής της μορφής. Οι ασθενείς με FSGS σχετιζόμενη με μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού εμφανίζονται σε μεγαλύτερη ηλικία (εφηβεία ή νωρίς στην ενήλικη ζωή), συγκριτικά με εκείνους που παρουσιάζουν FSGS οφειλόμενη σε μεταλλάξεις των γονιδίων *NPHS1* και *NPHS2*, που τυπικά εμφανίζονται σε πολύ μικρή ηλικία (Brown et al., 2010; Boyer et al., 2011; Barua et al., 2013).

Εκτός από μεμονωμένη FSGS, μεταλλάξεις του *INF2* μπορούν να προκαλέσουν μια μορφή της νόσου Charcot- Marie- Tooth (CMT) σε συνδυασμό με FSGS (FSGS+CMT), που είναι γνωστή ως Charcot- Marie- Tooth disease dominant intermediate subtype E (CMTDIE), λόγω επικρατούς τύπου κληρονομικότητας και ενδιάμεσων κινητικών ταχυτήτων αγωγής νεύρων (nerve conduction velocity, NCV) που κυμαίνονται από τον απομυελινωτικό έως τον αξονικό τύπο (Labat-de-Hoz and Alonso, 2020).

Η πολυνευροπάθεια Charcot- Marie-Tooth - γνωστή και ως κληρονομική κινητική και αισθητική νευροπάθεια (Hereditary motor and sensory neuropathy)- αποτελεί την πιο συχνή κληρονομική νευρομυϊκή διαταραχή με συχνότητα προσβολής 1/2.500. Οφείλεται σε ένα μεγάλο αριθμό μεταλλάξεων που παρουσιάζονται σε περισσότερα από 80 διαφορετικά γονίδια. Ανάλογα με το υπεύθυνο γονίδιο ταξινομείται σε διάφορους τύπους και υποτύπους. Αν και η νόσος χαρακτηρίζεται από μεγάλη κλινική ετερογένεια, τα βασικά κλινικά χαρακτηριστικά είναι η περιφερική μυϊκή αδυναμία και

ατροφία, τα μειωμένα ή κατηργημένα τενόντια αντανακλαστικά, η περιφερική απώλεια αισθητικότητας και οι παραμορφώσεις των άκρων χειρών και ποδών (όπως η χαρακτηριστική κοιλοποδία - pes cavus) (Labat-de-Hoz and Alonso, 2020).

Στους ασθενείς με FSGS+CMT οι εκδηλώσεις της CMT εμφανίζονται στην παιδική ηλικία, ενώ τα νεφρικά συμπτώματα εμφανίζονται νωρίτερα συγκριτικά με τους ασθενείς με μεμονωμένη FSGS. Επίσης, μπορεί να παρουσιάζουν νευροαισθητήρια βαρηκοΐα, ενώ ένας μικρός αριθμός ασθενών παρουσιάζει νοητική καθυστέρηση και ανωμαλίες του κεντρικού νευρικού συστήματος. Είναι αξιοσημείωτο ότι όλες οι μεταλλάξεις που μπορούν να προκαλέσουν FSGS+CMT, με εξαίρεση τις V181G και E184K, συγκεντρώνονται στα εξόνια 2 και 3 (Labat-de-Hoz and Alonso, 2020).

Το γονίδιο *SYNPO*

Το γονίδιο *SYNPO* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 5q33.1 και κωδικοποιεί τη συναπτοποδίνη (synaptopodin), μια ειδική για τα ποδοκύτταρα πρωτεΐνη δέσμευσης ακτίνης. Σταθεροποιώντας τα ινίδια τάσης (stress fibers), η συναπτοποδίνη διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση της δυναμικής της ακτίνης των ποδοκυττάρων και στη διατήρηση της λειτουργίας του διηθητικού φραγμού (Yu et al., 2016).

Η συναπτοποδίνη αλληλεπιδρά με την α -actinin-4 και ρυθμίζει τη σύνδεση των ινιδίων ακτίνης και το σχηματισμό δεσμίδων στις ποδοειδείς προσεκβολές. Επίσης, η συναπτοποδίνη αλληλεπιδρά με τη CD2AP στο σχισμοειδές διάφραγμα (Kawachi and Fukusumi, 2020).

Η συναπτοποδίνη επηρεάζει την εντόπιση και τη λειτουργία του ιοντικού διαύλου TRPC6. Μέσω της ρύθμισης της λειτουργίας του TRPC6, η συναπτοποδίνη συμμετέχει στη ρύθμιση της λειτουργίας του σχισμοειδούς διαφράγματος (Yu et al., 2016).

Η συναπτοποδίνη έχει κομβικό ρόλο στη ρύθμιση της RhoA και της Cdc42 στα ποδοκύτταρα. Οι δίαυλοι ιόντων TRPC5 και TRPC6 είναι ανταγωνιστικοί ρυθμιστές της αφθονίας της συναπτοποδίνης, ενώ η εισροή Ca^{+2} μέσω του TRPC5 μεσολαβεί στην αποδόμηση της συναπτοποδίνης και στην ενεργοποίηση της Rac1 (Buvall et al., 2017).

Η μειωμένη έκφραση της συναπτοποδίνης στα σπειράματα έχει παρατηρηθεί σε πολυάριθμες νεφρικές παθήσεις, όπως η FSGS, η HIV-νεφροπάθεια και το ιδιοπαθές νεφρωσικό σύνδρομο της παιδικής ηλικίας, συμπεριλαμβανομένης της νόσου ελαχίστων αλλοιώσεων (minimal change disease, MCD) και της διάχυτης μεσαγγειακής υπερκυτταρικότητας (diffuse mesangial hypercellularity). Επιπλέον, τα χαμηλά επίπεδα συναπτοποδίνης σχετίζονται με φτωχή ανταπόκριση στη θεραπεία με κορτικοστεροειδή. Η αποκατάσταση των επιπέδων συναπτοποδίνης έχει θεωρηθεί ως μια πιθανή προσέγγιση για τη βελτίωση της σπειραματικής λειτουργίας. Η κυκλοσπορίνη, ένα φάρμακο που έχει χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της FSGS, αποδείχθηκε ότι προστατεύει τα ποδοκύτταρα εμποδίζοντας την αποδόμηση της συναπτοποδίνης (Yu et al., 2016).

Η απουσία της συναπτοποδίνης μετατοπίζει τη συνολική ισορροπία των πρωτεϊνών Rho από την RhoA προς την Rac1. Η γονιδιακή αποσιώπηση της συναπτοποδίνης προκαλεί την απώλεια των ινιδίων τάσης και τη μείωση της RhoA (Buvall et al., 2017).

Τέλος, σε πρόσφατη μελέτη, ποντίκια με σύνδρομο Alport και έλλειψη συναπτοποδίνης εμφάνισαν ταχύτερη εξέλιξη της νόσου, υποδεικνύοντας τον προστατευτικό ρόλο της συναπτοποδίνης (Ning et al., 2021).

Γονίδια σχετιζόμενα με την οικογένεια πρωτεϊνών Rho (Rho GTPases)

Η οικογένεια πρωτεϊνών Rho ανήκει στην υπεροικογένεια των μικρών πρωτεϊνών G ή μικρών GTPασών και περιλαμβάνει την RhoA, την Rac1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1) και την Cdc42 (cell division control protein 42 homolog). Οι Rho GTPases παίζουν καθοριστικό ρόλο στη δυναμική της ακτίνης, το σχήμα και την κινητικότητα των κυττάρων (Blaine and Dylewski, 2020).

Συμπεριφέρονται σαν μοριακοί “διακόπτες” που ελέγχουν διάφορες κυτταρικές διεργασίες μεταπίπτοντας από μία ενεργό κατάσταση - προσδεδωμένες με GTP - σε μια ανενεργό κατάσταση - προσδεδωμένες με GDP - και το αντίστροφο (Steichen et al., 2022).

Στην περίπτωση του κυτταροσκελετού, η ενεργοποίηση διαφορετικών μελών της οικογένειας Rho επηρεάζει την οργάνωση των ινιδίων ακτίνης με διαφορετικό τρόπο. Παραδοσιακά, οι Rac1 και Cdc42 θεωρούνταν ότι προάγουν την κινητικότητα των

ποδοκυττάρων μέσω του σχηματισμού προσεκβολών στο οδηγό άκρο του κυττάρου. Η Rac1 προάγει το σχηματισμό ελασματοποδίων (lamellipodia), ενώ η Cdc42 πυροδοτεί το σχηματισμό ινοποδίων (filopodia). Από την άλλη πλευρά, η RhoA θεωρούνταν ότι προάγει το σχηματισμό συσταλτών ινιδίων τάσης, που περιέχουν ακτίνη και μυοσίνη, στο κυτταρικό σώμα και στο πίσω τμήμα του κυττάρου. Σύμφωνα με αυτή την άποψη, είχε αποδειχθεί ότι η περίσσεια της δραστηριότητας της RhoA σε σύγκριση με αυτή των Rac1/Cdc42 είχε ως αποτέλεσμα ποδοκύτταρα με πιο σταθερό φαινότυπο και άθικτες ποδοειδείς προσεκβολές, ενώ η ενεργοποίηση της Rac1 και της Cdc42 είχε αποδειχθεί ότι προάγει την κινητικότητα και την απαλοιφή των ποδοειδών προσεκβολών. Ωστόσο, πιο πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η ισορροπία της δραστηριότητας της RhoA και των Rac1/Cdc42 είναι καθοριστική για τη διατήρηση του κυτταροσκελετού της ακτίνης στα ποδοκύτταρα, καθώς τόσο η παρατεταμένη ενεργοποίηση όσο και η αναστολή της RhoA προκαλούν απαλοιφή των ποδοειδών προσεκβολών και πρωτεϊνουρία. Μια ποικιλία παραγόντων μπορεί να ρυθμίσει τη δραστηριότητα των Rho GTPασών στα ποδοκύτταρα, συμπεριλαμβανομένης της εισροής ασβεστίου μέσω του ιοντικού διαύλου TRPC6 (Blaine and Dylewski, 2020).

Δεδομένης αυτής της πολυπλοκότητας και της ανάγκης για ισορροπία μεταξύ όλων αυτών των σηματοδοτικών μονοπατιών, έχουν εντοπιστεί πολυάριθμες γονιδιακές μεταλλάξεις που σχετίζονται με αυτό το σύστημα και προκαλούν νόσο (Blaine and Dylewski, 2020).

Τα σηματοδοτικά μονοπάτια των Rho GTPασών εμπλέκονται στην παθογένεια μονογονιδιακών παραλλαγών που προκαλούν κορτικο-ανθεκτικό νεφρωσικό σύνδρομο (Li et al., 2020).

Μεταλλάξεις στα γονίδια **ARHGDI** και **ARHGAP24** έχει αποδειχθεί ότι οδηγούν σε αυξημένη δραστηριότητα των Rac1 και Cdc42 με αποτέλεσμα την εμφάνιση νόσου (Blaine and Dylewski, 2020).

Το γονίδιο **ARHGDI** εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17q25.3 και κωδικοποιεί την πρωτεΐνη Rho GDP dissociation Inhibitor alpha (ARHGDI). Σε ασθενείς με ομόζυγες μεταλλάξεις του γονιδίου, η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη αποτυγχάνει να αλληλεπιδράσει με τις Rac1 και Cdc42, με αποτέλεσμα αυξημένη σύνδεση αυτών με το GTP και επομένως αυξημένη δραστηριότητα των Rac1 και Cdc42. Μεταλλάξεις του **ARHGDI** προκαλούν νεφρωσικό σύνδρομο συγγενές ή στην πρώιμη παιδική ηλικία, με

αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας (De Vriese et al., 2018; Li et al., 2020).

Το γονίδιο *ARHGAP24* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 4q22.1 και κωδικοποιεί την πρωτεΐνη Rho GTPase activating protein 24 (*ARHGAP24*), η οποία ενεργοποιεί την RhoA οδηγώντας σε καταστολή του σχηματισμού ελασματοποδίων. Μεταλλάξεις του *ARHGAP24* προκαλούν FSGS με έναρξη στην εφηβεία και αυτοσωμικό επικρατή τύπο κληρονομικότητας (De Vriese et al., 2018; Li et al., 2020).

Παρομοίως, μεταλλάξεις στα γονίδια *KANK1*, *KANK2* και *KANK4* που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες kidney ankyrin repeat- containing protein 1, 2 και 4, αντίστοιχα (*KANK*), σχετίζονται με νεφρωσικό σύνδρομο λόγω των αλληλεπιδράσεών τους με πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με την RhoA (η *KANK 1* αλληλεπιδρά με τη συναπτοποδίνη και η *KANK2* αλληλεπιδρά με την *ARHGDI1*) (Blaine and Dylewski, 2020).

Μεταλλάξεις στα γονίδια *FAT1* (κωδικοποιεί την πρωτεΐνη FAT atypical cadherin 1), *ITSN1* (κωδικοποιεί την πρωτεΐνη intersectin 1), και *ITSN2* (κωδικοποιεί την πρωτεΐνη intersectin 2), έχουν αναφερθεί ότι προκαλούν νεφρωσικό σύνδρομο λόγω των δυσμενών επιπτώσεών τους στην ενεργοποίηση της Cdc42 με αποτέλεσμα τη διαταραχή της μετανάστευσης των ποδοκυττάρων. Από τις πιο μελετημένες μεταλλάξεις που επηρεάζουν την Cdc42 είναι οι μεταλλάξεις του γονιδίου *INF2*, που αναπτύχθηκαν νωρίτερα (Blaine and Dylewski, 2020).

Η *DLC1* (Deleted in liver cancer 1) είναι ένα άλλο παράδειγμα πρωτεΐνης που ενεργοποιεί την δραστικότητα GTPάσης στις Rho πρωτεΐνες (Rho GTPase-activating protein). Μεταλλάξεις στο γονίδιο *DLC1* προκαλούν νεφρωσικό σύνδρομο. Επιπλέον, καθώς η *DLC1* ρυθμίζεται από την *Cdk20* (cyclin-dependent kinase 20) και την *TNS2* (tensin-2), μεταλλάξεις των γονιδίων *CDK20* και *TNS2* ευθύνονται για ορισμένες περιπτώσεις νεφρωσικού συνδρόμου (Blaine and Dylewski, 2020).

Αλλά και η *MAGI2* συνδέεται απευθείας με την κυτταροπλασματική ουρά της νεφρίνης και ρυθμίζει τον κυτταροσκελετό της ακτίνης μέσω της RhoA, ενώ παραλλαγές του γονιδίου *MAGI2* έχουν βρεθεί σε ασθενείς με συγγενές νεφρωσικό σύνδρομο ανθεκτικό στα κορτικοστεροειδή (Li et al., 2020). Το γονίδιο *MAGI2* παρουσιάστηκε αναλυτικά σε προηγούμενο κεφάλαιο.

Παθολόγες μεταλλάξεις σε έξι γονίδια (*DLC1*, *CDK20*, *TNS2*, *ITSN1*, *ITSN2*, *MAGI2*) έχουν βρεθεί σε ασθενείς με νεφρωσικό σύνδρομο με μερική ανταπόκριση στα κορτικοστεροειδή. Τα γονίδια αυτά κωδικοποιούν ένα σύμπλεγμα πρωτεϊνών που είτε φυσικά είτε λειτουργικά αλληλεπιδρούν για τη ρύθμιση της ενεργοποίησης των RhoA/Rac1/Cdc42. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι η θεραπεία με δεξαμεθαζόνη καταργεί την ενεργοποίηση της RhoA που προκαλεί το knockdown του *DLC1* ή του *CDK20* in vitro (Ashraf et al., 2018).

ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΠΥΡΗΝΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ

Παθογόνες παραλλαγές σε γονίδια που ελέγχουν την ανάπτυξη του ουροποιογεννητικού συστήματος μπορούν να προκαλέσουν ένα ευρύ φάσμα συστηματικών συνδρόμων με νεφρική προσβολή.

Το **γονίδιο *WT1*** ήταν το πρώτο μεταλλαγμένο γονίδιο που ανακαλύφθηκε σε κορτικο-ανθεκτικό νεφρωσικό σύνδρομο. Εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 11p13 και κωδικοποιεί την πρωτεΐνη του όγκου του Wilms, *WT1* (Wilms Tumor protein 1), η οποία είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που εμπλέκεται στην ανάπτυξη των γονάδων και του νεφρού. Στους ώριμους νεφρούς, το γονίδιο *WT1* εκφράζεται στα ποδοκύτταρα και στα επιθηλιακά κύτταρα της κάψας του Bowman.

Μεταλλάξεις του *WT1* τροποποιούν την έκφραση της νεφρίνης και της ποδοκαλυξίνης. Παραλλαγές του *WT1* οδηγούν σε τρεις κλινικούς τύπους SRNS: το σύνδρομο Denys-Drash (DDS), το σύνδρομο Frasier (FS) και το νεφρωσικό σύνδρομο τύπου 4 (nephrotic syndrome type 4, NPHS4). Το σύνδρομο Denys-Drash και το σύνδρομο Frasier είναι σπάνιες νόσοι, που κληρονομούνται με τον αυτοσωμικό επικρατή τύπο και χαρακτηρίζονται από άρρενα ψευδο-ερμαφροδιτισμό (46, XY με φαινότυπο θήλεος και δυσγενεσία γονάδων), εξελισσόμενη σπειραματοπάθεια και ανάπτυξη ουρογεννητικών όγκων, όπως νεφροβλάστωμα (ή όγκο του Wilms) στο DDS και γοναδοβλάστωμα στο FS. Η σπειραματική βλάβη στο DDS είναι η διάχυτη μεσαγγειακή σκλήρυνση, ενώ στο FS η εστιακή τμηματική σπειραματοσκλήρυνση. Οι ασθενείς με DDS εμφανίζουν υψηλή επίπτωση σοβαρού βαθμού υπέρτασης και ταχεία εξέλιξη σε ESRD μέχρι την ηλικία των 3 ετών. Στο FS, οι άρρενες ψευδο-ερμαφρόδιτοι εμφανίζονται με φαινότυπο θήλεος με αμμηνόρροια ή νεφρωσικό σύνδρομο ή και τα δύο. Το νεφρωσικό σύνδρομο μπορεί να έχει βραδεία εξέλιξη, συνήθως μέσα σε 10 έτη, και είναι τυπικά κορτικο-ανθεκτικό. Οι ασθενείς αυτοί εμφανίζουν ESRD στη 2η ή 3η δεκαετία της ζωής, με τις περισσότερες περιπτώσεις να προκύπτουν στην εφηβεία. Υπάρχουν και περιπτώσεις που προκύπτουν σε πολύ νεαρότερα παιδιά. Σπάνια, ένας καρυότυπος XX με ηπιότερο φαινότυπο μπορεί να μην αναγνωριστεί κλινικά ως FS και να εκδηλωθεί μόνο με νεφρική νόσο (Pritchard – Jones et al., 1990; Tryggvason et al., 2006; Joshi et al., 2013).

Οι παραλλαγές του *WT1* που προκαλούν το DDS σχεδόν πάντα αφορούν τα εξόνια 8 ή 9 και οδηγούν στην παραγωγή παθολογικής πρωτεΐνης η οποία δεν μπορεί να προσδεθεί στο DNA. Η συχνότερη παραλλαγή για το DDS (40% των περιπτώσεων) αντικαθιστά το αμινοξύ αργινίνη με το αμινοξύ τρυπτοφάνη στη θέση 394 της πρωτεΐνης *WT1* (Arg394Trp ή R394W). Οι παραλλαγές του *WT1* που προκαλούν το FS σχεδόν πάντα συμβαίνουν στο ιντρόνιο 9, με πιο συχνή (περίπου 50% των περιπτώσεων) την IVS+4C>T, που αφορά μονονουκλεοτιδική αλλαγή στην περιοχή ματίσματος (Joshi et al., 2013; Al-Hussain et al., 2014; Lipska BS et al., 2014).

Το νεφρωσικό σύνδρομο τύπου 4 έχει πρώιμη έναρξη (4ος - 12ος μήνας), κληρονομείται με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο, είναι κορτικο-ανθεκτικό, η ιστολογική βλάβη είναι συχνότερα η DMS αλλά μπορεί να εμφανιστεί και ως FSGS και χαρακτηρίζεται από ταχεία εξέλιξη σε ESRD (μέσα σε 1-3 έτη) (Joshi et al., 2013).

Το **γονίδιο *PAX2*** εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 10q24.31 κωδικοποιεί την paired box protein 2 (*PAX2*), έναν άλλο μεταγραφικό παράγοντα με κεντρικό ρόλο στην ανάπτυξη των νεφρών κατά την εμβρυογένεση. Το *PAX2* καταστέλλει έντονα την έκφραση του *WT1* και αντίστροφα. Παραλλαγές στο *PAX2* οδηγούν σε διαταραχή της ρύθμισης στους στόχους της *PAX2* συμπεριλαμβανομένου του *WT1*, με αποτέλεσμα τη διαταραχή της ανάπτυξης των ποδοκυττάρων και των ποδοειδών προσεκβολών και επομένως την εμφάνιση FSGS (Vivante et al., 2019).

Το *PAX2* εκφράζεται στον μετάνεφρο, σε κυτταρικές σειρές που σχηματίζουν τους νεφρώνες και σε εκείνες που προορίζονται να διαφοροποιηθούν σε ουρητήρα, νεφρική πύελο και στο σύστημα των αθροιστικών σωληναρίων. Τα ποντίκια με ομόζυγη μετάλλαξη του *PAX2* γεννιούνται χωρίς νεφρά, ουρητήρες ή γεννητικές οδούς, γεγονός που υποδηλώνει το ρόλο του σε πολλαπλά στάδια της ανάπτυξης του ουροποιογεννητικού συστήματος. Οι ετερόζυγες παραλλαγές του *PAX2* ανακαλύφθηκαν για πρώτη φορά σε ασθενείς με σύνδρομο νεφρικού κολοβώματος (renal-coloboma syndrome ή papillorenal syndrome), οι οποίοι παρουσίαζαν νεφρική υπο/δυσπλασία, ανωμαλίες του οπτικού νεύρου και νευροαισθητήρια απώλεια ακοής, όμως πλέον έχουν εντοπιστεί παραλλαγές σε ένα ευρύ φάσμα φαινοτύπων, συμπεριλαμβανομένων της κυστεοουρητηρικής παλινδρόμησης (Vesicoureteral reflux, VUR) και του πολυκυστικού δυσπλαστικού νεφρού (multicystic dysplastic kidney, MCDK) (Torres et al., 1995; Harshman et al., 2012).

Οι Vivante et al. μελέτησαν 215 μη συγγενικές οικογένειες με SRNS, στις οποίες δεν είχε προηγουμένως διαπιστωθεί υποκείμενο γενετικό αίτιο. Η μελέτη κατέδειξε υψηλή συχνότητα μεταλλάξεων του *PAX2* στην οικογενή μορφή του SRNS (5,2%) επεκτείνοντας, επιπλέον, το φαινοτυπικό φάσμα των ετερόζυγων μεταλλάξεων του *PAX2* ώστε να συμπεριλάβει την αυτοσωμική επικρατούσα FSGS της παιδικής ηλικίας. Αυτά τα αποτελέσματα υπογραμμίζουν τη σημασία της συμπερίληψης του *PAX2* στον κατάλογο των γονιδίων που είναι γνωστό ότι προκαλούν FSGS στα παιδιά (Vivante et al., 2019).

Το **γονίδιο *LMX1B*** εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 9q33.3 και κωδικοποιεί τον LIM homeobox transcription factor 1B (*LMX1B*), έναν μεταγραφικό παράγοντα που παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των άκρων, των οφθαλμών, του εγκεφάλου και των νεφρών. Ο *LMX1B* εκφράζεται δια βίου στα ποδοκύτταρα, ρυθμίζει την ανάπτυξη των ποδοειδών προσεκβολών και του σχισμοειδούς διαφράγματος και είναι ουσιώδης για τη διατήρηση του κυτταροσκελετού της ακτίνης στα ποδοκύτταρα (Burghardt et al., 2013).

Παραλλαγές στο *LMX1B* προκαλούν κορτικο-ανθεκτικό νεφρωσικό σύνδρομο μεμονωμένα (FSGS 10) ή στα πλαίσια του συνδρόμου Nail- patella (ονυχο-επιγονατιδικό σύνδρομο ή κληρονομική οστεο-ονυχο-δυσπλασία, hereditary osteo-onychodysplasia) (Li et al., 2020).

Το σύνδρομο Nail- patella είναι ένα σπάνιο, πολυσυστηματικό, αυτοσωμικό επικρατές νόσημα με υψηλή διεισδυτικότητα, αλλά ποικίλη έκφραση ακόμα και στην ίδια οικογένεια. Χαρακτηρίζεται από σκελετικές ανωμαλίες των άκρων και της πυέλου (π.χ. υποπλασία ή απουσία επιγονατίδων, δυσπλασία αγκώνων, λαγόνια κέρατα), δυστροφία των ονύχων και νεφρική νόσο, ενώ μπορεί να συνυπάρχουν και άλλες εκδηλώσεις (νευροαισθητήρια απώλεια ακοής, οφθαλμική νόσος π.χ. γλαύκωμα, αγγειοκινητικές ή γαστρεντερικές διαταραχές, νευρολογικές εκδηλώσεις). Νεφρική νόσος εμφανίζεται στο 30-40% των ασθενών με σύνδρομο Nail- patella και εκδηλώνεται με μικροσκοπική αιματουρία και ήπια λευκωματουρία. Η λευκωματουρία μπορεί να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε ηλικία ή να είναι διαλείπουσα. Κάποιοι ασθενείς θα αναπτύξουν νεφρωσικό σύνδρομο και μόνο 1-5% του συνόλου των ασθενών θα εμφανίσει ESRD (Bongers et al., 2005; Sweeney et al., 2003; Lemley, 2009).

Η έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας θεωρείται ότι οφείλεται στην προοδευτική πάχυνση και αποδιοργάνωση της GBM. Αναφέρεται ότι ασθενείς με χρόνια ή/και τελικού σταδίου νεφρική νόσο έχουν μεταλλάξεις του *LMX1B* που εντοπίζονται κυρίως σε μια μικρή περιοχή της *LMX1B* homeodomain και στο αμινοτελικό άκρο της περιοχής LIM (N-terminal region of the LIM domain) (Harita et al., 2020).

Επιπλέον, συγκεκριμένες missense μεταλλάξεις του *LMX1B* (p.R246P, p.R246Q, p.R249Q) έχουν συσχετιστεί με οικογενή FSGS, χωρίς όμως άλλα κλινικά χαρακτηριστικά του συνδρόμου Nail-patella (Boyer et al., 2013; Edwards et al., 2015).

Το γονίδιο *MAFB* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 20q12 εκφράζεται ειδικά στα ποδοκύτταρα, στα μακροφάγα και στους οστεοκλάστες και παίζει κεντρικό ρόλο στη διαφοροποίηση, την ανάπτυξη και τη διατήρηση της λειτουργικότητάς τους. Κωδικοποιεί τον μεταγραφικό παράγοντα MAF bZIP (ή V-maf musculoaroneurotic fibrosarcoma oncogene homolog B). Παραλλαγές του *MAFB* μπορούν να προκαλέσουν FSGS στην 1η-2η δεκαετία της ζωής σε συνδυασμό με το σύνδρομο Duan retraction, ένα συγγενές σύνδρομο στραβισμού που χαρακτηρίζεται από διαταραχή της οριζόντιας κίνησης των οφθαλμών (Sato et al., 2018).

Επιπλέον, μετάλλαξη του *MAFB* μπορεί να προκαλέσει το σύνδρομο MCTO (Multicentric carpo-tarsal osteolysis syndrome), ένα σπάνιο σύνδρομο οστεόλυσης που αφορά κυρίως τα οστά του καρπού και του ταρσού και εμφανίζεται συνήθως στην πρώιμη παιδική ηλικία. Συχνά διαγιγνώσκεται λανθασμένα ως νεανική ιδιοπαθής αρθρίτιδα (Juvenile Idiopathic Arthritis) λόγω παρόμοιων κλινικών εκδηλώσεων. Η σκελετική διαταραχή συνδυάζεται συχνά με χρόνια νεφρική νόσο. Σε μελέτη 54 ασθενών παρατηρήθηκε υψηλό ποσοστό νεφρικής προσβολής (70%), πρώιμη ηλικία έναρξης της νεφρικής νόσου, πρωτεϊνουρία νεφρωσικού εύρους και νεφρική επιβίωση 40% κατά τη μακροχρόνια παρακολούθηση. Επίσης αναφέρθηκε η πρώτη περίπτωση πλήρους ύφεσης μετά από θεραπεία με κυκλοσπορίνη (Drovandi et al., 2022).

Το **γονίδιο *E2F3*** εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 6p22.3 και κωδικοποιεί τον μεταγραφικό παράγοντα E2F, ο οποίος αναστέλλει την έκφραση του VEGF και προάγει την απόπτωση κατά την ανάπτυξη των αγγείων. Παραλλαγές στο γονίδιο *E2F3*, οδηγούν σε πρώιμη έναρξη κορτικο-ανθεκτικού νεφρωσικού συνδρόμου και έκπτωση νοητικών λειτουργιών εξαιτίας διαταραχής στη ρύθμιση της σύνθεσης του VEGF (Izu et al., 2011).

Παθολόγες παραλλαγές σε γονίδια που κωδικοποιούν διάφορα συστατικά των συμπλόκων των πυρηνικών πόρων (**nuclear pore complexes**, NPC) έχουν συσχετιστεί με SRNS. Τα σύμπλοκα των πυρηνικών πόρων είναι μεγάλες, περίπλοκες, μακρομοριακές ενώσεις που αποτελούνται από πρωτεΐνες, οι οποίες ονομάζονται νουκλεοπορίνες (nucleoporin proteins, NUP) και σχηματίζουν διαύλους διαμέσου του πυρηνικού περιβλήματος που επιτρέπουν την εκλεκτική μεταφορά πρωτεϊνών, μορίων RNA και RNPs μεταξύ του κυτταροπλάσματος και του πυρήνα. Στα γονίδια αυτά περιλαμβάνονται τα **NUP93, NUP205, NUP107, NUP85, NUP133, NUP160**, τα οποία κωδικοποιούν τις αντίστοιχες νουκλεοπορίνες, καθώς και το **XPO5**, το οποίο κωδικοποιεί την exportin-5, μια πυρηνική πρωτεΐνη που αλληλεπιδρά με τις νουκλεοπορίνες. Είναι ενδιαφέρουσα η παρατήρηση ότι ορισμένοι ασθενείς με παραλλαγές της NUP93 είχαν μερική ανταπόκριση στη θεραπεία με κορτικοστεροειδή και κυκλοσπορίνη (Braun et al., 2016; Braun et al., 2018).

ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ

Γενετικές παραλλαγές που οδηγούν σε δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων μπορεί να συμβούν στο πυρηνικό ή στο μιτοχονδριακό γονιδίωμα και να προκαλέσουν τις λεγόμενες μιτοχονδριακές κυτταροπάθειες (mitochondrial cytopathies), σπάνια κληρονομικά νοσήματα με πολυσυστηματικές εκδηλώσεις.

Μεταλλάξεις στο μιτοχονδριακό **γονίδιο *MTTL1***, που κωδικοποιεί το μιτοχονδριακό tRNA για τη λευκίνη (mitochondrially encoded tRNA leucine 1 ή UUR), προκαλούν ποικίλες διαταραχές όπως το σύνδρομο MELAS (μιτοχονδριακή εγκεφαλομυοπάθεια, γαλακτική οξέωση και επεισόδια που μοιάζουν με εγκεφαλικά), διαβήτη, κώφωση καθώς και νεφρωσικού εύρους λευκωματουρία με FSGS και εξέλιξη σε χρόνια νεφρική νόσο στο 50% των περιπτώσεων. Η συχνότερη υπεύθυνη παραλλαγή είναι η 3243A>G (Emma et al., 2012).

Παραλλαγή στο μιτοχονδριακό **γονίδιο *MTATP6*** (Mitochondrially Encoded ATP Synthase Membrane Subunit 6) συσχετίστηκε με νεφρωσικού εύρους λευκωματουρία και FSGS σε άτομο με σύνδρομο NARP (νευροπάθεια, αταξία, μελαγχρωστική αμφιβληστροειδοπάθεια) (Lemoine et al., 2018).

Τέλος, νεφρωσικό σύνδρομο πρώιμης έναρξης έχει αναφερθεί σε παιδιά με ανεπάρκεια του συνενζύμου Q10 (ουβικινόνη), η οποία οφείλεται σε παραλλαγές γονιδίων που εμπλέκονται στη βιοσύνθεσή του (***COQ2***, ***PDSS2***, ***COQ6*** και ***COQ8B/ADCK4***) (Diomedi- Camassei et al., 2007; Peng et al., 2008; Heeringa et al., 2011; Ashraf et al., 2013; Scalais et al., 2013; Iványi et al., 2018). Διάφορα συνοδά συμπτώματα υποδηλώνουν μιτοχονδριακή διαταραχή: απώλεια ακοής, νυσταγμός, εγκεφαλοπάθεια, επιληπτικές κρίσεις, αταξία, υποτονία, καθυστέρηση ανάπτυξης, σακχαρώδης διαβήτης και αυξημένα επίπεδα γαλακτικού. Αυτοί οι ασθενείς μπορεί να ωφεληθούν από θεραπεία με ουβικινόνη (15-30 mg/kg ημερησίως) (Starr et al., 2018).

ΣΥΝΘΕΤΕΣ ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ

Το γονίδιο *APOL1*

Πέραν του μενδελιανού τρόπου κληρονομικότητας, παραλλαγές του γονιδίου *APOL1* (εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 22q12.3 και κωδικοποιεί την απολιποπρωτεΐνη L1, ApoL1) επιδεικνύουν πιο σύνθετες συσχετίσεις στον πληθυσμό των Αφρο-Αμερικανών (AA). Τρεις πολυμορφισμοί μεμονωμένων νουκλεοτιδίων (single nucleotide polymorphisms, SNPs) στατιστικά σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο Χρόνιας Νεφρικής Νόσου (ΧΝΝ) στους AA. Δύο από αυτούς (rs73885319 και rs60910145) βρίσκονται στο τελευταίο εξόνιο του γονιδίου της ApoL1 (εξόνιο 7) και είναι αποτέλεσμα αντικατάστασης δύο αμινοξέων, σερίνη αντί για γλυκίνη και ισολευκίνη αντί για μεθειονίνη στις θέσεις 342 και 384 αντίστοιχα. Οι δύο αυτές μεταλλάξεις αναφέρονται ως G1 αλληλίο, καθότι βρίσκονται σε πλήρη ανισορροπία σύνδεσης ($r^2=1$) μεταξύ τους, δηλαδή βρίσκονται πάντα μέσα σε ένα αλληλίο. Η τρίτη μετάλλαξη (rs71785313), επίσης του εξονίου 7, είναι μία διαγραφή δύο αμινοξέων (ασπαραγινίνης και τυροσίνης στις θέσεις 388 και 389) και καλείται G2 αλληλίο. Οι δύο αυτές μεταλλάξεις είναι σε πλήρη αρνητική ανισορροπία σύνδεσης (δεν συμβαίνουν στο ίδιο αλληλίο). Τα G1 και G2 αλληλία συμβαίνουν στη φύση ανεξάρτητα και δεν υφίστανται γενετικό ανασυνδυασμό, δηλαδή δεν υπάρχει απλότυπος που φέρει G1 και G2 ταυτόχρονα (Siemens et al., 2018).

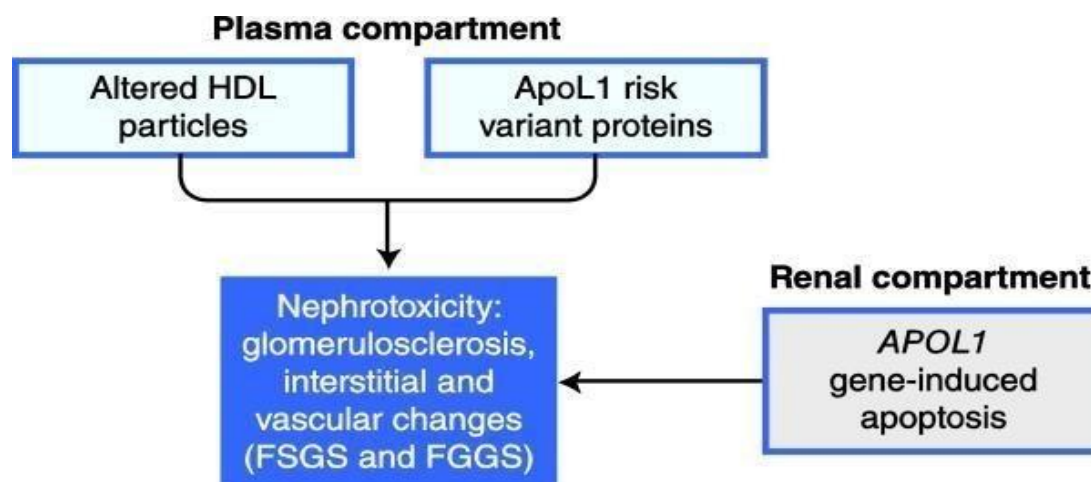
Οι παραλλαγές του γονιδίου της ApoL1 είναι είτε σε ομόζυγη (G1/G1 ή G2/G2) είτε σε σύνθετη (G1/G2) ή απλή ετερόζυγη μορφή (G1/G0 ή G2/G0). Η ομόζυγη και η σύνθετη ετερόζυγη μορφή αποτελούν τον υψηλού κινδύνου γονότυπο (high risk genotype, HRG). AA φορείς του HRG σε σύγκριση με τους μη-AA έχουν 3πλάσιο κίνδυνο νεφρίτιδας του ΣΕΛ, 7πλάσιο κίνδυνο υπερτασικής νεφροσκλήρυνσης, 17 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο πρωτοπαθούς FSGS και 29 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης νεφροπάθειας του HIV. Οι δύο παραλλαγές εμφανίστηκαν 10 χιλιάδες χρόνια πριν στην υπο-Σαχάρια Αφρική και μεταφέρθηκαν στην Αμερική μέσω του δουλεμπορίου. Φαίνεται ότι προσέφεραν προστατευτικό αποτέλεσμα έναντι της νόσου από το *Trypanosoma* εξασφαλίζοντας εξελικτικό πλεονέκτημα επιβίωσης στους φορείς (Siemens et al., 2018).

Το μόριο της ApoL1, βρίσκεται στην κυκλοφορία σε συγκέντρωση 0,3 mg/dl, ως εξειδικευμένη HDL συνδεδεμένη με τη σχετιζόμενη με απποσφαιρίνη πρωτεΐνη, που

δρα ως υποδοχέας εισόδου στο *Trypanosoma*. Εκφράζεται στο ήπαρ, το πάγκρεας και τους νεφρούς και σε μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα, πλακουντιακά κύτταρα, νευρώνες του προμετωπιαίου φλοιού και στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ειδικότερα στο νεφρό εκφράζεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα, στο επιθήλιο του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου, στα ποδοκύτταρα και (σε FSGS και HIV νεφροπάθεια) στις μεσολοβίδες αρτηρίες και τα σπειραματικά αρτηριόλια (Meyrier, 2015; Siemens et al., 2018).

Η ApoL1 σχηματίζει ανιονικό πόρο στη λιποσωμιακή μεμβράνη του παρασίτου και αυξάνοντας τη διαπερατότητα οδηγεί σε οίδημα και θάνατο αυτού (αδυναμία λοίμωξης από το *Trypanosoma brucei*). Το *Trypanosoma rhodensiense* προκαλεί οξεία νόσο (ασθένεια του ύπνου), αναπτύσσοντας μηχανισμό διαφυγής από τον κυτταρικό θάνατο μέσω της πρωτεΐνης αντίστασης του ορού (serum resistance-associated, SRA), που συνδέεται με το καρβοξυτελικό άκρο της ApoL1 (όπου και οι G1 και G2 μεταλλάξεις) και έτσι αντιστρατεύεται την τρυπανολυτική δράση της ApoL1. Οι μεταλλάξεις κινδύνου εμποδίζουν τη σύνδεση της SRA και την εξουδετέρωση της τρυπανολυτικής δράσης (Siemens et al., 2018).

Καθώς, όμως, η εμφάνιση ΧΝΝ επισυμβαίνει σε ηλικία μεγαλύτερη της αναπαραγωγικής (μη εξασκώντας μειονέκτημα φυσικής επιλογής) φαίνεται ότι οι μεταλλάξεις μπορεί να οδηγούν σε πίεση επιλογής, όταν επιπλέον υπάρχει διαταραχή της έμφυτης ανοσίας. Δηλαδή για την εκδήλωση νεφρικής νόσου εκτός από τον HRG απαιτείται και δεύτερο ερέθισμα (χρόνια φλεγμονή και παραγωγή ιντερφερόνης, όπως στον ΣΕΛ, αυξημένη έκφραση του γονιδίου *UBD* - μέσω INF- γ και TNF- α - και παραγωγή πρωτεϊνών εμπλεκόμενων στην κυτταρική αποδόμηση). Έχει προταθεί ότι ο HRG προκαλεί απόπτωση των ποδοκυττάρων, ελάττωση του αριθμού τους και προοδευτική σπειραματοσκλήρυνση (Siemens et al., 2018).



Εικόνα 13. Πιθανός μηχανισμός συμμετοχής των παραλλαγών του γονιδίου της **APOL1** στην ανάπτυξη μη διαβητικής νεφροπάθειας (Freedman and Murea, 2012).

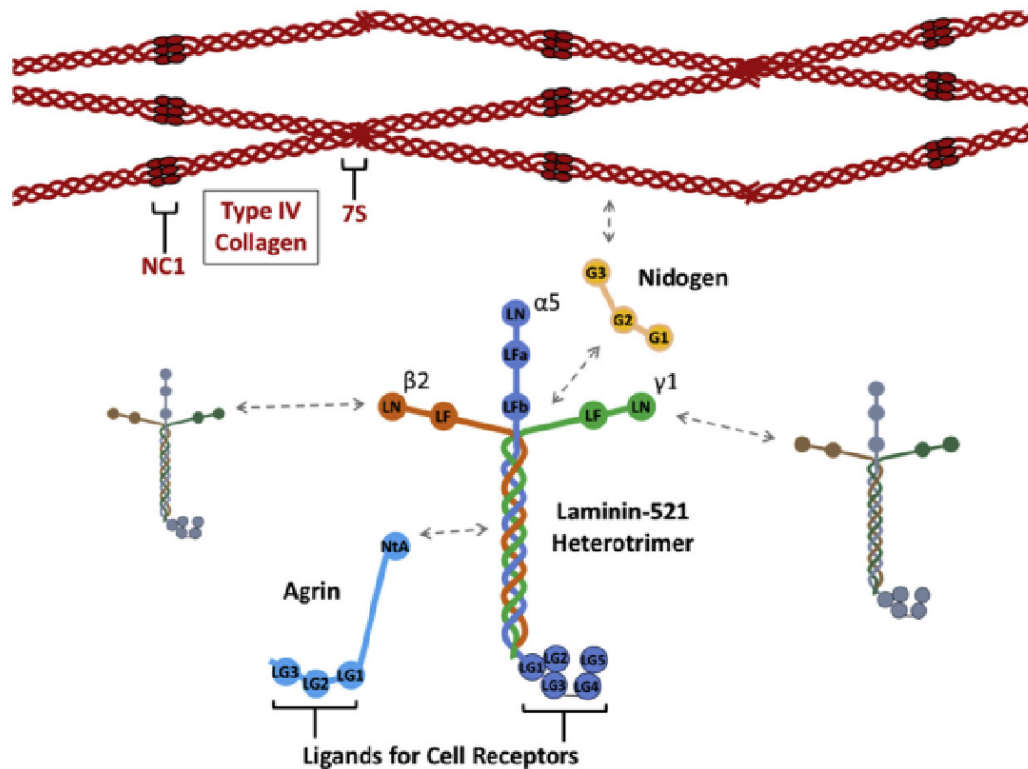
Το γονίδιο *GPC5*

Βασισμένη σε GWAS (genome-wide association studies), η glypican-5 κωδικοποιούμενη από το γονίδιο *GPC5*, που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 13q31.3, συμβάλλει στον κίνδυνο για την ανάπτυξη νεφρωσικού συνδρόμου και ευπάθειας για τη διαβητική νεφροπάθεια (ΔΝ) σε Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2. Η glypican-5 ανήκει στις πρωτεογλυκάνες της θειικής ηπαράνης και σε φυσιολογικές καταστάσεις συνεισφέρει στο αρνητικό φορτίο του σχισμοειδούς διαφράγματος. Παράγεται κυρίως στα ποδοκύτταρα και εκκρίνεται στην παραμεσαγγειακή θεμέλια ουσία σε μη διαβητικές καταστάσεις. Σε ΔΝ εκφράζεται όχι μόνο στα ενδοθηλιακά σπειραματικά κύτταρα και στα ποδοκύτταρα, αλλά και στη μεσαγγειακή περιοχή παράλληλα με την εξέλιξη της οζώδους σκλήρυνσης. In vivo και in vitro δεδομένα, συσχετίζουν τη δράση της με τον Fibroblast Growth Factor 2 (FGF-2), που επάγει την εξέλιξη της πρωτεϊνουρίας μέσω των υποδοχέων FGFR 3 και FGFR 4. Ο FGF-2 αυξάνεται στην κυκλοφορία στις καταστάσεις μικροαγγειακής και μακροαγγειακής ενδοθηλιακής βλάβης του Σακχαρώδη Διαβήτη, αλλά και στο σωληναριοδιάμεσο ιστό σε ΔΝ. Οι δύο αυτές πηγές οδηγούν στη σπειραματική έκφραση του FGF-2 και των υποδοχέων του στην εξέλιξη της ΔΝ. Αύξηση του FGF-2 προκαλεί ποδοκυττοπάθεια μέσω της οδού της caspase-3 και διέγερση της υπερπλασίας και της αύξησης της μεσαγγειακής ουσίας (αυξημένη έκφραση της μικρής Rho-GTPase Rac1, κύριου ρυθμιστή της προσκόλλησης και της κινητικότητας στην εξωκυττάρια ουσία) (Okamoto et al., 2015).

ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΗΣ ΣΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΒΑΣΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ

Γονίδια για τη laminin (*LAMB2* και *LAMA5*)

Η laminin-521 είναι η κύρια ισομορφή της laminin στη GBM. Είναι μία ετεροτριμερής, σε σχήμα σταυρού, γλυκοπρωτεΐνη, που αποτελείται από τις αλυσίδες α5, β2 και γ1 της laminin. Κατά τη διάρκεια της σπειραματογένεσης, τα τριμερή της laminin-521 εκκρίνονται από τα ποδοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα και πολυμερίζονται στην εξωκυττάρια ουσία για να σχηματίσουν ξεχωριστά, σε μορφή κιγκλιδώματος, δίκτυα σε κάθε πλευρά της GBM. Ο πολυμερισμός των τριμερών σε δίκτυο κατευθύνεται από αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αμινοτελικών περιοχών των αλυσίδων α5, β2 και γ1 της laminin. Αυτό αφήνει τη μεγάλη σφαιρική καρβοξυτελική περιοχή της α5 αλυσίδας να συνδεθεί με υποδοχείς (ιντεγκρίνες και μη-ιντεγκρίνες) στην επιφάνεια των ποδοκυττάρων, ενδοθηλιακών και μεσαγγειακών κυττάρων, ώστε να προσκολλώνται και πιθανόν να τροποποιούν την οργάνωση της βασικής μεμβράνης. Τα nidogens και οι πρωτεογλυκάνες της θειικής ηπαράνης θεωρούνται ότι συνδέουν τα δίκτυα του κολλαγόνου IV και της laminin στην εξωκυττάρια ουσία μεταξύ τους και - σε μερικές περιπτώσεις - με κυτταρικούς υποδοχείς για να εγκαθιδρύσουν τη βασική μεμβράνη και τη σύνδεσή της με τις κυτταρικές επιφάνειες (Funk et al., 2018).



Εικόνα 14. Σχηματική απεικόνιση των κύριων συστατικών της σπειραματικής βασικής μεμβράνης (Funk et al., 2018).

Μεταλλάξεις του γονιδίου *LAMB2*, που κωδικοποιεί τη β2 αλυσίδα της laminin, προκαλούν είτε το σύνδρομο Pierson είτε το συγγενές νεφρωσικό σύνδρομο με ή χωρίς οφθαλμικές ανωμαλίες (νεφρωσικό σύνδρομο τύπου 5, NPHS5). Ως σύνδρομο Pierson αναφέρεται το αυτοσωμικό υπολειπόμενο συγγενές νεφρωσικό σύνδρομο με διάχυτη μεσαγγειακή σκλήρυνση, σαφείς οφθαλμικές ανωμαλίες (μικροκορία και υποπλασία ακτινωτού μυός και μυών της κόρης) και νευροαναπτυξιακή καθυστέρηση. Το πειραματικό ανάλογο του συνδρόμου Pierson, χαρακτηρίζεται από GBM με μεγάλους πόρους διαπερατή στο μόριο της φερριτίνης (Funk et al., 2018).

Η κύρια λειτουργία της laminin είναι ότι συνδέει κυτταρικούς υποδοχείς εξασφαλίζοντας την προσκόλληση και τη σηματοδότηση. Τα ποδοκύτταρα εκφράζουν την ιντεγκρίνη α3β1, υποδοχέα της α5 αλυσίδας της laminin-521, που έχει σημασία για την ομοιοστάση των ποδοκυττάρων. Η παθογένεια του συνδρόμου Pierson περιλαμβάνει μειονεκτικές αλληλεπιδράσεις βασικής μεμβράνης- ποδοκυττάρων και επιπρόσθετα εσωτερικά ελλείμματα στη βασική μεμβράνη. Πειραματικά δεδομένα μεταλλάξεων

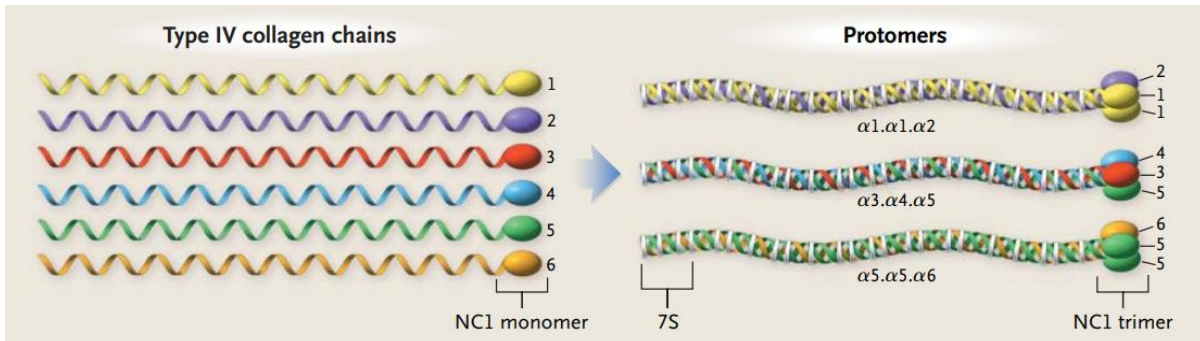
έδειξαν μειωμένη έκκριση της laminin-521, ίσως λόγω διαταραγμένης πρωτεϊνικής αναδίπλωσης και αυξημένο stress του ενδοθηλιακού δικτύου, που επηρεάζουν την ομοιοστάση των ποδοκυττάρων και επιταχύνουν την αποκόλληση από τη βασική μεμβράνη (Funk et al., 2018).

Επίσης, πρόσφατα, παραλλαγές του γονιδίου *LAMA5*, που κωδικοποιεί την α5 αλυσίδα της laminin-521, περιγράφηκαν σε 3 οικογένειες με ιστορικό νεφρωσικού συνδρόμου στην παιδική ηλικία και σοβαρή υποψία υπολειπόμενης μονογονιδιακής αιτίας (Braun et al., 2019).

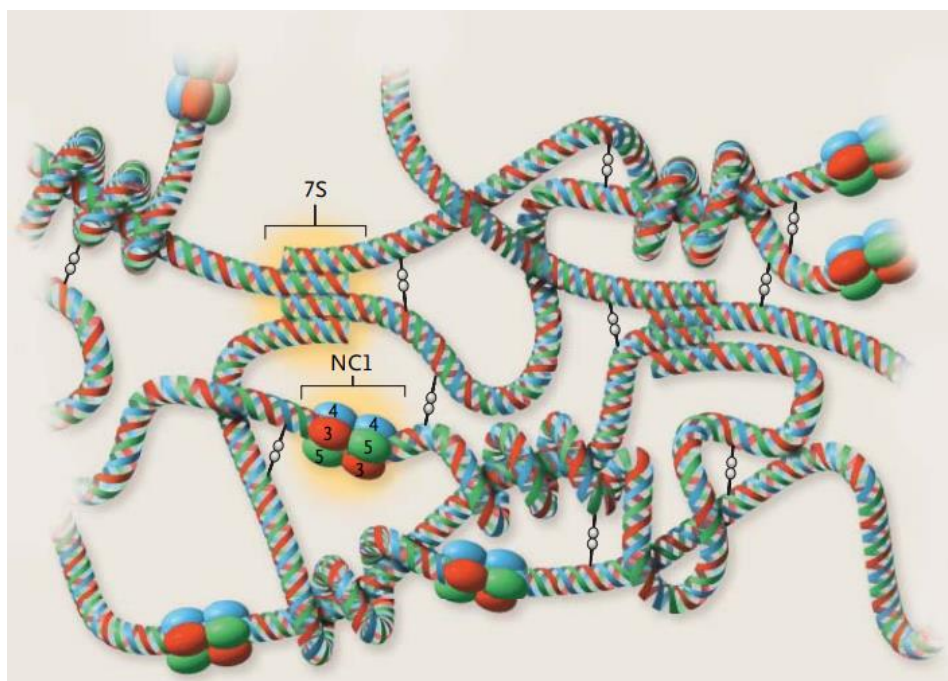
Γονίδια για το Κολλαγόνο IV (*COL4A1-6*)

Το κολλαγόνο IV είναι ένα άλλο δομικό συστατικό της βασικής μεμβράνης. Υπάρχουν 6 α-αλυσίδες κολλαγόνου IV, που κωδικοποιούνται από τα γονίδια *COL4A1-6*. Όπως όλες οι άλλες αλυσίδες κολλαγόνου, οι αλυσίδες κολλαγόνου IV περιέχουν μια επαναληπτική περιοχή τριών αμινοξέων Gly-X-Y (όπου συχνά το X αντιστοιχεί σε proline και το Y σε hydroxyproline), που επιτρέπει την περιέλιξη τριών α αλυσίδων σε τριπλή έλικα. Οι α αλυσίδες συναρμολογούνται σε τριμερή (αποκαλούνται και πρωτομερή) στο ενδοπλασματικό δίκτυο οδηγώντας σε 3 ξεχωριστές ισομορφές: α1α1α2, α3α4α5, α5α5α6. Το δίκτυο των αλυσίδων κολλαγόνου IV περιέχει πολλές διασπάσεις της τριάδας Gly-X-Y, που προσφέρουν ευκαμψία στα τριμερή και στη βασική μεμβράνη. Κάθε αλυσίδα έχει χαρακτηριστικές μη-κολλαγονικές (non-collagenous, NC) περιοχές στο αμινοτελικό (7S περιοχή) και στο καρβοξυτελικό άκρο (NC1 περιοχή) για την αναγνώριση και συναρμογή των μονομερών σε τριμερή και των τριμερών σε δίκτυο. Οι αμινοτελικές 7S περιοχές των τριμερών αλληλεπιδρούν με τις 7S περιοχές 3 άλλων τριμερών φτιάχνοντας δωδεκαμερή δομή, ενώ οι καρβοξυτελικές NC1 περιοχές αλληλεπιδρούν με την NC1 περιοχή ενός άλλου τριμερούς και φτιάχνουν εξαμερή δομή. Το κύριο δίκτυο κολλαγόνου IV στη σπειραματική βασική μεμβράνη αποτελείται από τη μορφή α3α4α5 και βρίσκεται στην κεντρική περιοχή, ενώ λιγότερη εκπροσώπηση έχει η ισομορφή α1α1α2, που γειτνιάζει με τα ενδοθηλιακά κύτταρα και μπορεί να συνδέεται με κυτταρικούς υποδοχείς. Χρησιμοποιώντας φασματομετρία μάζας αναδεικνύεται ότι η σταθερότητα των εξαμερών του κολλαγόνου IV εξαρτάται από ένα δεσμό sulfilimine μεταξύ της μεθειονίνης μιας NC1 περιοχής και της

υδροξυλυσίνης μιας άλλης, ο σχηματισμός του οποίου απαιτεί ιόν βρωμίου και κατάλυση από το ένζυμο peroxidasin (Funk et al., 2018).



Εικόνα 15. Σχηματική απεικόνιση των 6 διαφορετικών αλυσίδων κολλαγόνου τύπου IV ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\alpha 6$) που συνδυάζονται ανά 3 και σχηματίζουν 3 πρωτομερή (τριπλές έλικες)($\alpha 1\alpha 1\alpha 2$, $\alpha 3\alpha 4\alpha 5$, $\alpha 5\alpha 5\alpha 6$). Κάθε πρωτομερές έχει μια περιοχή 7S στο αμινοτελικό άκρο, ένα μακρύ κεντρικό κολλαγονικό τμήμα και μια μη-κολλαγονική περιοχή NC1 στο καρβοξυτελικό άκρο. Διασπάσεις στην αλληλουχία αμινοξέων Gly-X-Y σε πολλαπλά σημεία κατά μήκος του κολλαγονικού τμήματος (λευκοί δακτύλιοι) προσφέρουν ευκαμψία στα πρωτομερή και στη βασική μεμβράνη και επιτρέπουν το σχηματισμό δικτύων (Hudson et al.,2003).



Εικόνα 16. Δίκτυο κολλαγόνου στη GBM (αποτελείται κυρίως από την ισομορφή $\alpha 3\alpha 4\alpha 5$) (Hudson et al.,2003).

Το γονίδιο *COL4A5* βρίσκεται στο Χ χρωμόσωμα, ενώ τα γονίδια *COL4A3* και *COL4A4* στο χρωμόσωμα 2. Το σύνδρομο Alport προκαλείται είτε από φυλοσύνδετη μετάλλαξη στο γονίδιο *COL4A5*, είτε από μεταλλάξεις στα γονίδια *COL4A3* και *COL4A4* που κληρονομούνται με αυτοσωμικό τρόπο (υπολειπόμενο ή επικρατή). Οι περισσότερες μεταλλάξεις εμποδίζουν το σχηματισμό των τριμερών α3α4α5, καθώς και οι τρεις πρωτεΐνες απουσιάζουν από τη βασική μεμβράνη. Υπάρχει αντιρροπιστική έκπτυξη του δικτύου των α1α1α2 από τα ενδοθηλιακά κύτταρα προς τα ποδοκύτταρα της βασικής μεμβράνης, αλλά η διατήρηση της αρχιτεκτονικής της τελευταίας είναι μόνο προσωρινή. Αρχικά η βασική μεμβράνη είναι λεπτή, αλλά με την πρόοδο της ηλικίας εμφανίζει ανώμαλη πάχυνση ταυτόχρονα με απόσχιση και σχηματισμό πετάλων (εμφάνιση “basket-wave”). Η διαμόρφωση αυτή της βασικής μεμβράνης αντανακλά εσωτερικό δομικό έλλειμμα, καθιστώντας την ευαίσθητη σε πρωτεάσες. Οι περισσότεροι ερευνητές συμφωνούν ότι η βασική μεμβράνη του σπειράματος θα χάσει τη σύνθεσή της χωρίς επαρκές κολλαγόνο IV. Πειραματικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι η παθολογική ενεργοποίηση υποδοχέων κολλαγόνου (discoidin-like domain receptor 1, ιντεγκρίνη α1 και ιντεγκρίνη α2) στα ποδοκύτταρα οδηγεί στην απώλεια της αυτορρύθμισης της βασικής μεμβράνης στο σύνδρομο Alport (Funk et al., 2018).

Εκτός όμως από το κολλαγόνο IV, μεταβολές στη σύνθεση της βασικής μεμβράνης σε laminin μπορεί να παίζουν ρόλο στο σύνδρομο Alport. Υπάρχουν δεδομένα έκτοπης συσσώρευσης της laminin α2, που φυσιολογικά εντοπίζεται στη μεσαγγειακή εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Αυτή οδηγεί σε παθολογική σηματοδότηση και αναστολή φυσιολογικού πολυμερισμού από τη laminin-521, ακόμα και αν τα επίπεδα της laminin α5 βρίσκονται αυξημένα. Όλες οι μεταβολές της βασικής μεμβράνης αναμένεται να επηρεάσουν τη συμπεριφορά στα γειτονικά κύτταρα: ποδοκύτταρα, μεσαγγειακά και ενδοθηλιακά κύτταρα. Τα ποδοκύτταρα υφίστανται μεταβολές στην έκφραση γονιδίων, εστιακή ενεργοποίηση κινασών και επιταχυνόμενη αποκόλληση από τη βασική μεμβράνη, που τυπικά οδηγεί σε σπειραματοσκλήρυνση. Χρησιμοποιώντας τρισδιάστατη μικροσκοπική ανασύσταση φαίνεται ότι τα ποδοκύτταρα αποκτούν φαινότυπο με προβολές στη βασική μεμβράνη συνοδευόμενη από την εξάλειψη των ποδοειδών προσεκβολών. Η συμμετοχή των μεσαγγειακών κυττάρων υποστηρίζεται από τη θετική χρώση των περιφερικών αγκυλών στην ιντεγκρίνη α8 (φυσιολογικά δείκτης των μεσαγγειακών κυττάρων) και της βελτίωσης κάποιων ανωμαλιών της βασικής μεμβράνης μέσω αναστολής των υποδοχέων της ενδοθηλίνης A (και της

έναρξης σχηματισμού των ινιδίων της ακτίνης). Η ενεργοποίηση των τελευταίων οφείλεται σε αυξημένη έκφραση της ενδοθηλίνης A από τα ενδοθηλιακά κύτταρα δευτερογενώς από διαταραγμένη έκφραση κυτοκινών από τα ποδοκύτταρα (Funk et al., 2018).

Κλινικά, το σύνδρομο Alport χαρακτηρίζεται από αιματουρία, πρωτεϊνουρία και προοδευτική έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας. Υπάρχει επίσης νευροαισθητήρια βαρηκοΐα και οφθαλμικές εκδηλώσεις (πρόσθιος φακόκωνος, οπίσθιος καταρράκτης και δυστροφία του κερατοειδή). Λόγω του φυλοσύνδετου τρόπου μεταβίβασης, νοσούν περισσότεροι άνδρες από γυναίκες, αλλά μερικές γυναίκες με ετερόζυγη μετάλλαξη (*COL4A5*+/-) έχουν κάποια συμπτώματα ή νεφρική νόσο. Αυτό εξηγείται από την τυχαία αδρανοποίηση ενός X χρωμοσώματος. Έτσι τα μισά ποδοκύτταρα εκκρίνουν φυσιολογικά $\alpha3\alpha4\alpha5$ τριμερή επειδή έχει αδρανοποιηθεί το X χρωμόσωμα με τη μετάλλαξη, ενώ τα άλλα μισά με το φυσιολογικό χρωμόσωμα αδρανοποιημένο δεν μπορούν να εκκρίνουν φυσιολογικά $\alpha3\alpha4\alpha5$ τριμερή. Κάθε άθροιση ποδοκυττάρων, που δεν μπορούν να εκκρίνουν κολλαγόνο IV $\alpha3\alpha4\alpha5$ οδηγεί σε εστιακές περιοχές ανώμαλης βασικής μεμβράνης με τυπικές για το Alport βλάβες και τελικά την εκδήλωση του συνδρόμου (Funk et al., 2018).

Τα πράγματα γίνονται πιο σύνθετα όσον αφορά στα αυτοσωμικά γονίδια *COL4A3* και *COL4A4*. Ασθενείς με σύνδρομο Alport χωρίς φυλοσύνδετη μετάλλαξη έχουν μεταλλάξεις είτε στο *COL4A3* είτε στο *COL4A4*, συνήθως ομόζυγες ή σύνθετες ετερόζυγες, που εμποδίζουν την έκκριση φυσιολογικών $\alpha3\alpha4\alpha5$ τριμερών. Αυτοί διαγιγνώσκονται με αυτοσωμικό σύνδρομο Alport. Μερικοί *COL4A3* και *COL4A4* ετεροζυγώτες έχουν αιματουρία και λεπτή βασική μεμβράνη, αλλά όχι την τυπική διαχωρισμένη και πεπαχυσμένη του συνδρόμου. Αυτή η κατάσταση έχει ιστορικά περιγραφεί ως καλοήθης οικογενής αιματουρία ή νόσος της λεπτής μεμβράνης. Ένα σημαντικό ποσοστό όμως θα εξελιχθεί σε νεφρική ανεπάρκεια και σε πολλούς με πρωτεϊνουρία η βιοψία έχει θέσει τη διάγνωση FSGS, που μέχρι πρόσφατα δεν συσχετιζόταν με μεταλλάξεις του κολλαγόνου IV. Καθώς περίπου 1% του πληθυσμού φέρει μια ετερόζυγη μετάλλαξη στο γονίδιο *COL4A3* ή *COL4A4* έχοντας αυξημένο κίνδυνο για να αναπτύξει νεφρική νόσο, τα άτομα αυτά πρέπει να ταυτοποιούνται και να παρακολουθούνται στενά (Funk et al., 2018).

Από GWAS μετα-ανάλυση σε 19406 Ευρωπαίους με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1, ο SNP rs55703767 (Asp326Tyr) του γονιδίου *COL4A3* αναδείχθηκε προστατευτικός σε διάφορες περιπτώσεις νεφρικής νόσου. Στη Διαβητική Νεφροπάθεια: OR, 0.79 (95% CI, 0.73-0.84), σε οποιαδήποτε αλβουμινουρία: OR, 0.83 (95% CI, 0.79-0.88), στο συνδυασμό ΧΝΝ-Διαβητικής Νεφροπάθειας: OR, 0.77 (95% CI, 0.71-0.84) και στη σοβαρή αλβουμινουρία: OR, 0.78 (95% CI, 0.72-0.85). Επίσης συσχετίστηκε με μικρότερο πάχος της GBM (Salem et al., 2019).

Άλλα γονίδια σχετιζόμενα με το κολλαγόνο

Τρεις άλλοι SNPs, κοντά σε γονίδια, που κωδικοποιούν πρωτεΐνες σχετιζόμενες με το κολλαγόνο βρέθηκαν επιβαρυντικοί για τη νεφρική νόσο. Ο rs12615970 κοντά στο γονίδιο *COLEC11*, που κωδικοποιεί την collectin-11, συσχετίστηκε με ΧΝΝ: OR, 1.31 (95% CI, 1.19-1.45). Η πρωτεΐνη αυτή είναι παράγοντας της έμφυτης ανοσίας, συντίθεται από πολλές κυτταρικές σειρές συμπεριλαμβανομένων των νεφρικών επιθηλιακών κυττάρων και παίζει ρόλο στην αναγνώριση και την άμυνα έναντι παθογόνων, μέσω σύνδεσης σακχαρικών μερών φρουκτόζης και μαννόζης. Ο rs116772905 στο εξόνιο 14 του γονιδίου *DDR1*, συσχετίστηκε με μικροαλβουμινουρία: OR, 3.78 (95% CI, 2.35-6.11). Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί έναν υποδοχέα τυροσινικής κινάσης, τον discoidin domain receptor tyrosine kinase 1 (DDR1), που συνδέει κολλαγόνα συμπεριλαμβανομένου του κολλαγόνου IV και εκφράζεται στο νεφρό, ιδιαίτερα μετά από νεφρική βλάβη. Ο rs144434404 στο ιντρόνιο 1 του γονιδίου *BMP7* συσχετίστηκε επίσης με μικροαλβουμινουρία: OR, 6.75 (95% CI, 3.61-12.74). Το γονίδιο *BMP7* κωδικοποιεί την πρωτεΐνη BMP7 (bone morphogenetic protein 7), η οποία αποτελεί τον προσδέτη (ligand) για την υπερ-οικογένεια πρωτεϊνών του TGF-β. Από τη BMP οικογένεια γλυκοζυλιωμένων πρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας ρυθμίζονται αναπτυξιακές διαδικασίες μέσω υποδοχέων κινάσων σερίνης- θρεονίνης και της Smad σηματοδότησης. Πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι η διατήρηση της έκφρασης της πρωτεΐνης BMP7 στα ποδοκύτταρα και τα κύτταρα του εγγύς σωληναρίου εμποδίζει την απώλεια των ποδοκυττάρων και μειώνει τη διαβητική νεφρική βλάβη (Salem et al., 2019).

Γονίδια για τις ιντεγκρίνες (*ITGA3*, *ITGB1*, *ITGB4*)

Αναφέρθηκε ήδη ότι τα ποδοκύτταρα εκφράζουν πιο πλούσια την ιντεγκρίνη $\alpha3\beta1$, υποδοχέα της $\alpha5$ αλυσίδας της laminin-521, εξασφαλίζοντας τη σύνδεση ποδοκυττάρων – laminin. Η $\alpha3$ αλυσίδα της ιντεγκρίνης κωδικοποιείται από το γονίδιο *ITGA3*, του οποίου ομόζυγες μεταλλάξεις έχουν βρεθεί ότι προκαλούν συγγενές νεφρωσικό σύνδρομο, διάμεση πνευμονική νόσο και φυσαλιδώδη επιδερμόλυση (epidermolysis bullosa) με ελλείμματα στη βασική μεμβράνη. Επίσης μετάλλαξη του *ITGA3*, που οδηγεί σε γλυκοζυλίωση και από αυτή αδυναμία σχηματισμού του διμερούς $\alpha3\beta1$ προκαλεί θανατηφόρο διάμεση πνευμονική νόσο και συγγενές νεφρωσικό σύνδρομο (Lennon et al., 2014b). Η ιστολογική εξέταση των νεφρών έδειξε ανώμαλη βασική μεμβράνη, εστιακή σπειραματοσκλήρυνση και ατροφία σωληναρίων. Επίσης, περιγράφηκαν ατροφικά σπειράματα, σύμπτωση αγκυλών, ινώδης απόφραξη του χώρου του Bowman και διάμεση διήθηση από λεμφοκύτταρα (Has et al., 2012).

Ειδική μετάλλαξη του *ITGB1*, που κωδικοποιεί τη $\beta1$ αλυσίδα της ιντεγκρίνης, σε ποντίκια οδήγησε σε σοβαρό φαινότυπο με πρωτεϊνουρία από τη γέννηση και νεφρική ανεπάρκεια στις πρώτες 3 εβδομάδες και παθολογικά ευρήματα στα σπειράματα και τα σωληνάκια (Lennon et al., 2014b).

Η $\alpha6\beta4$ ιντεγκρίνη, επίσης, συνδέεται με το δίκτυο της laminin και ομόζυγη μετάλλαξη του γονιδίου *ITGB4*, που κωδικοποιεί τη $\beta4$ αλυσίδα, έχει ταυτοποιηθεί σε περίπτωση συγγενούς νεφρωσικού συνδρόμου με εστιακή σπειραματοσκλήρυνση, επιδερμόλυση και ατρησία πυλωρού (Lennon et al., 2014b).

Το γονίδιο *CD151*

Το γονίδιο *CD151* κωδικοποιεί την CD151, μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη η οποία είναι μέλος της οικογένειας των tetraspanins και εκφράζεται σε πολλούς κυτταρικούς τύπους. Οι tetraspanins σχηματίζουν μεμβρανικά συμπλέγματα στη βάση των ποδοειδών προσεκβολών κατά μήκος της βασικής μεμβράνης και επιτρέπουν άθροιση των συνδεδεμένων πρωτεϊνών, όπως ιντεγκρινών και κινασών, καθιστώντας έτσι εφικτή την κυτταρική σηματοδότηση και την προσκόλληση κυττάρων- εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (Li et al., 2020).

Η tetraspanin CD151 σχηματίζει σταθερά συμπλέγματα σύνδεσης της laminin με τις ιντεγκρίνες $\alpha 3\beta 1$ και $\alpha 3\beta 6$ στο νεφρό. Το γονίδιο *CD151* βρίσκεται στην ίδια θέση στο χρωμόσωμα 11p15.5 με το γονίδιο της ομάδας MER2 του αίματος. Η tetraspanin CD151 εκφράζει το αντιγόνο της MER2 ομάδας και εντοπίζεται στα ερυθροκύτταρα, ενώ ταυτόχρονα έχει λειτουργική σημασία για το έσω ους και το δέρμα (Karamatic Crew et al., 2004). Μεταλλάξεις του γονιδίου *CD151* στον άνθρωπο οδηγούν σε αιματοουρία, πρωτεϊνουρία και εξέλιξη σε νεφρική ανεπάρκεια, παράλληλα με προκνημιαία επιδερμόλυση, νευροαισθητήρια βαρηκοΐα και ελάσσονα β-θαλασσαιμία (Lennon et al., 2014b; Karamatic Crew et al., 2004). Σε 3 από 4 ασθενείς με έλλειψη του MER2 αντιγόνου και αντι-MER2 αντισώματα, υπήρχε ομοζυγωτία εισαγωγής νουκλεοτιδίου (G383) στο εξόνιο 5 της *CD151*, και παραγωγή ελαττωματικής πρωτεΐνης (με αδυναμία σύνδεσης με ιντεγκρίνες). Στους ασθενείς αυτούς το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο αποκάλυψε πάχυνση και διάσπαση της σωληναριακής βασικής μεμβράνης, δικτύωση και κατακερματισμό της lamina densa της GBM μαζί με την εναπόθεση πυκνών μορίων (Karamatic Crew et al., 2004; Li et al., 2020).

Ειδικό πειραματικό πρότυπο με ομόζυγη διαγραφή σχετικά με την *CD151* (*CD151^{-/-}*) σε σχέση με το wild-type *CD151^{+/+}* αναδεικνύει όμοιο νεφρικό φαινότυπο με μεταλλάξεις του γονιδίου *CD151* στον άνθρωπο. Στο πρότυπο αυτό 72 γονίδια υπερεκφράστηκαν και 183 υποεκφράστηκαν σε σχέση με τα σπειράματα στο *CD151^{+/+}*. Περαιτέρω ανάλυση αποκάλυψε την επαγωγή της μεταλλοπρωτεϊνάσης-10 (matrix metalloproteinase-10, MMP-10) και της πρωτεΐνης mindin της εξωκυττάριας ουσίας στη βασική μεμβράνη του προτύπου με τη μετάλλαξη. Μάλιστα στο τελευταίο η mindin προσδιορίστηκε σε δείγματα ούρων υπογραμμίζοντας τη δυνητική αξία της ως βιοδείκτη των σπειραματικών βλαβών, που σχετίζονται με τις μεταβολές της GBM. Η πρώιμη έκφραση της mindin στη διαταραγμένη βασική μεμβράνη μπορεί να αντιπροσωπεύει την πυροδότηση τόσο των μεταβολών του κυτταροσκελετού του ποδοκυττάρου, όσο και της φλεγμονής, διαδραματίζοντας κεντρικό ρόλο στην εξέλιξη της νόσου (Naudin et al., 2017).

ΓΟΝΙΔΙΑ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Σχετιζόμενα με την οδό του συμπληρώματος

Διαταραχές στη ρύθμιση και υπερ-ενεργοποίηση της εναλλακτικής οδού του συμπληρώματος προκαλούν ενδοθηλιακή βλάβη και οδηγούν στην εμφάνιση άτυπου αιμολυτικού ουραιμικού συνδρόμου (atypical hemolytic uremic syndrome, aHUS), με τις γνωστές εκδηλώσεις της μικροαγγειοπαθητικής αιμολυτικής αναιμίας, της θρομβοπενίας και της οξείας νεφρικής ανεπάρκειας. Ιστολογικά χαρακτηρίζεται από θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια, πάχυνση του τοιχώματος των τριχοειδών, οίδημα του ενδοθηλίου και υπενδοθηλιακή συσσώρευση εξωκυττάριας ουσίας (Li et al., 2020).

Από γονοτυπική ανάλυση 795 ασθενών με aHUS - στα πλαίσια της Ευρωπαϊκής Ομάδας Εργασίας για τη Γενετική του συμπληρώματος στις Νεφρικές παθήσεις - 41% είχαν μονογονιδιακές μεταλλάξεις και 3% μεταλλάξεις σε περισσότερα γονίδια σχετικά με το συμπλήρωμα. Ποσοστό 8-10% των ασθενών με μεταλλάξεις στα γονίδια **CFH** (κωδικοποιεί τον complement factor H, CFH), **CFB** (κωδικοποιεί τον complement factor B, CFB) ή το **C3** (κωδικοποιεί το complement component 3, C3) και περίπου 25% με μεταλλάξεις στο γονίδιο **CFI** (κωδικοποιεί τον complement factor I, CFI) ή στο **MCP** (κωδικοποιεί τη membrane cofactor protein, MCP) είχαν συνδυαστικές μεταλλάξεις. Η συνύπαρξη παθολογικών απλοτύπων των γονιδίων **CFH** και **MCP** αυξάνει τη διεισδυτικότητα της νόσου (73% στους φορείς δύο απλοτύπων κινδύνου έναντι 36% στους φορείς κανενός ή ενός απλοτύπου). Σε περίπτωση μετάλλαξης στο **CFH** ή στο **CFI**, η παρουσία μεταλλάξεων σε άλλα γονίδια δεν επηρεάζει την πρόγνωση. Αντίθετα 50% των ατόμων με συνδυαστική μετάλλαξη στο γονίδιο **MCP** ανέπτυξαν ESRD μέσα σε 3 έτη από την έναρξη της νόσου έναντι 19% αυτών με μεμονωμένη μετάλλαξη. Είτε σε συνδυασμό μεταλλάξεων είτε σε απλή μετάλλαξη στο γονίδιο **MCP**, η θεραπεία με πλάσμα οδήγησε σε παρόμοιο ποσοστό ύφεσης. Αντίθετα, οι εκβάσεις της νεφρικής μεταμόσχευσης ήταν χειρότερες σε συνδυαστική έναντι της απλής μετάλλαξης. Με βάση τα προαναφερθέντα, η γονιδιακή διερεύνηση για τους απλότυπους κινδύνου των γονιδίων **CFH** και **MCP** μπορεί να προβλέψει τον κίνδυνο εμφάνισης aHUS στους υγιείς φορείς των μεταλλάξεων. Επίσης στους ασθενείς με aHUS, η διερεύνηση όλων των σχετικών γονιδίων μπορεί να καθοδηγήσει τις αποφάσεις για τη νεφρική μεταμόσχευση (Bresin et al., 2013).

Μη σχετιζόμενα με την οδό του συμπληρώματος

Ομόζυγη ή σύνθετη ετερόζυγη μετάλλαξη στο γονίδιο *DGKE*, που κωδικοποιεί την Diacylglycerol Kinase Epsilon (DKGe), συνδέθηκε με την εμφάνιση aHUS σε 9 περιπτώσεις διαφορετικών οικογενειών. Όλοι οι ασθενείς εκδήλωσαν aHUS μέσα στο 1^ο έτος της ζωής με επεισόδια υποτροπών πριν την ηλικία των 5 ετών. Από όλες τις περιπτώσεις aHUS (47 σε παιδιατρικό και 36 σε ενήλικο πληθυσμό), μετάλλαξη στο γονίδιο *DGKE* ταυτοποιήθηκε σε 9 από 22 παιδιά (27%) με έναρξη aHUS πριν τη συμπλήρωση ηλικίας ενός έτους και αντιπροσώπευε το 50% οικογενούς νόσου (3 στις 6 οικογένειες) σε αυτή την ηλικιακή ομάδα. Μεταξύ των παιδιών με αποκατάσταση της νεφρικής λειτουργίας μετά την έναρξη του aHUS, σε όλα εκτός από ένα, επέμειναν αρτηριακή υπέρταση, μικροσκοπική αιματοουρία και πρωτεϊνουρία, που δεν είναι συχνά στις άλλες μορφές aHUS μεταξύ των επεισοδίων. Εξέλιξη σε ΧΝΝ σταδίου 4 και 5 ήταν συχνή στη 2^η δεκαετία της ζωής, ενώ 3 ασθενείς ανέπτυξαν νεφρωσικό σύνδρομο 3-5 έτη μετά τη νόσηση, επίσης σπάνιο γεγονός στις άλλες μορφές HUS. Η βιοψία νεφρού αποκάλυψε χρόνια θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια. Η μεταμόσχευση νεφρού σε 3 περιπτώσεις δεν ακολουθήθηκε από υποτροπή της νόσου στο μόσχευμα, αντίθετα με τις περιπτώσεις aHUS λόγω διαταραχών στο συμπλήρωμα, που συχνά υποτροπιάζουν χωρίς τη χορήγηση αντι-συμπληρωματικής αγωγής (Lemaire et al., 2013).

Η DGGe εκφράστηκε σε ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα και αιμοπετάλια (οι κύριοι τύποι κυττάρων που εμπλέκονται στη θρόμβωση), καθώς και σε φυσιολογικά ενδοθηλιακά κύτταρα των σπειραματικών τριχοειδών και στα ποδοκύτταρα. Παρόμοιες χρώσεις σε ασθενείς με aHUS, επιβεβαίωσαν τη μετάλλαξη απώλειας λειτουργίας της DGGe (Lemaire et al., 2013).

Η DGGe κατά προτίμηση φωσφορυλιώνει την περιέχουσα αραχιδονικό οξύ diacylglycerol (arachidonic acid-containing diacylglycerol, AADAG) σε φωσφατιδικό οξύ. Η AADAG είναι το κύριο σηματοδοτικό μόριο της οικογένειας της diacylglycerol, που, όπως έχει ήδη αναφερθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο, παράγεται από υδρόλυση της PIP2 από τη φωσφολιπάση C. Η AADAG ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση C (PKC). Στα ενδοθηλιακά κύτταρα η PKC αυξάνει την παραγωγή προθρομβωτικών [von Willebrand factor (VWF), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), platelet-activating factor (PAF), tissue factor (TF)] και αντιθρομβωτικών παραγόντων (tissue-type

plasminogen activator, t-PA) και ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια μέσω θρομβίνης. Η ισορροπία όλων αυτών των δράσεων δεν έχει πλήρως κατανοηθεί, αλλά η φωσφορυλίωση της AADAG μέσω της DGKe σε φωσφατιδικό οξύ τερματίζει τη σηματοδότηση. Έτσι η μη δράση της DGKe οδηγεί σε προθρομβωτική κατάσταση (Lemaire et al., 2013).

Με παρόμοιο μηχανισμό στα ποδοκύτταρα οι diacylglycerols τροποποιούν τη λειτουργία στο σχισμοειδές διάφραγμα επάγοντας την ενδοκυττάρωση της νεφρίνης και προκαλώντας πρωτεϊνουρία και νεφρική ανεπάρκεια. Τέλος, οι κλινικές εκδηλώσεις της αρτηριακής υπέρτασης, μικροσκοπικής αιματουρίας και πρωτεϊνουρίας και το χαρακτηριστικό του νεφρωσικού συνδρόμου στις περιπτώσεις aHUS λόγω μεταλλάξεων στο *DGKE* δείχνουν ότι αυτές μπορεί να παίζουν ρόλο σε άλλες νεφρικές νόσους με όμοιο σπειραματικό φαινότυπο (σπειραματοπάθεια ΣΕΛ, σοβαρή προεκλαμψία / σύνδρομο HELLP) (Lemaire et al., 2013).

Υπάρχει όμως βιβλιογραφική αναφορά (Ozaltin et al., 2013) για τη συσχέτισή της με μεμβρανοϋπερπλαστική σπειραματονεφρίτιδα.

Επίσης, σε δύο οικογένειες με μετάλλαξη στο γονίδιο *INF2* στην περιοχή DID περιγράφηκε θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια μετά τη νεφρική μεταμόσχευση. Όλα τα άτομα με μεταλλάξεις στο γονίδιο *INF2* είχαν απλότυπους κινδύνου για aHUS. Όπως αναπτύχθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο, η πρωτεΐνη INF2 επιταχύνει τον πολυμερισμό και τον αποπολυμερισμό της ακτίνης, ρυθμίζοντας λειτουργίες του κυτταροσκελετού, όπως το εκκριτικό μονοπάτι και μεταλλάξεις του γονιδίου *INF2* έχουν συσχετιστεί με μεμονωμένη FSGS αλλά και συνδυασμό FSGS με CMT (Challis et al., 2017).

aHUS έχει περιγραφεί σε περιπτώσεις πρωτοπαθούς FSGS, ενώ θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια έχει συσχετιστεί με άλλες σπειραματοπάθειες (IgA σπειραματοπάθεια, ANCA αγγειίτιδα, anti-GBM σπειραματονεφρίτιδα). Έχει υποτεθεί ότι άμεση ή έμμεση (λόγω μειονεκτικής έκκρισης VEGF από τα ποδοκύτταρα) βλάβη του ενδοθηλίου οδηγεί σε διαταραχή της μικροκυκλοφορίας, σχηματισμό αιμοπεταλιακών μικροθρόμβων και θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια. Η ενεργοποίηση προπηκτικών παραγόντων θεωρείται ότι συνεισφέρει στην κλινική εικόνα των ασθενών με νεφρωσικό σύνδρομο (Challis et al., 2017).

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΩΝ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΛΛΑΓΩΝ ΣΤΗΝ ΕΚΔΗΛΩΣΗ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ

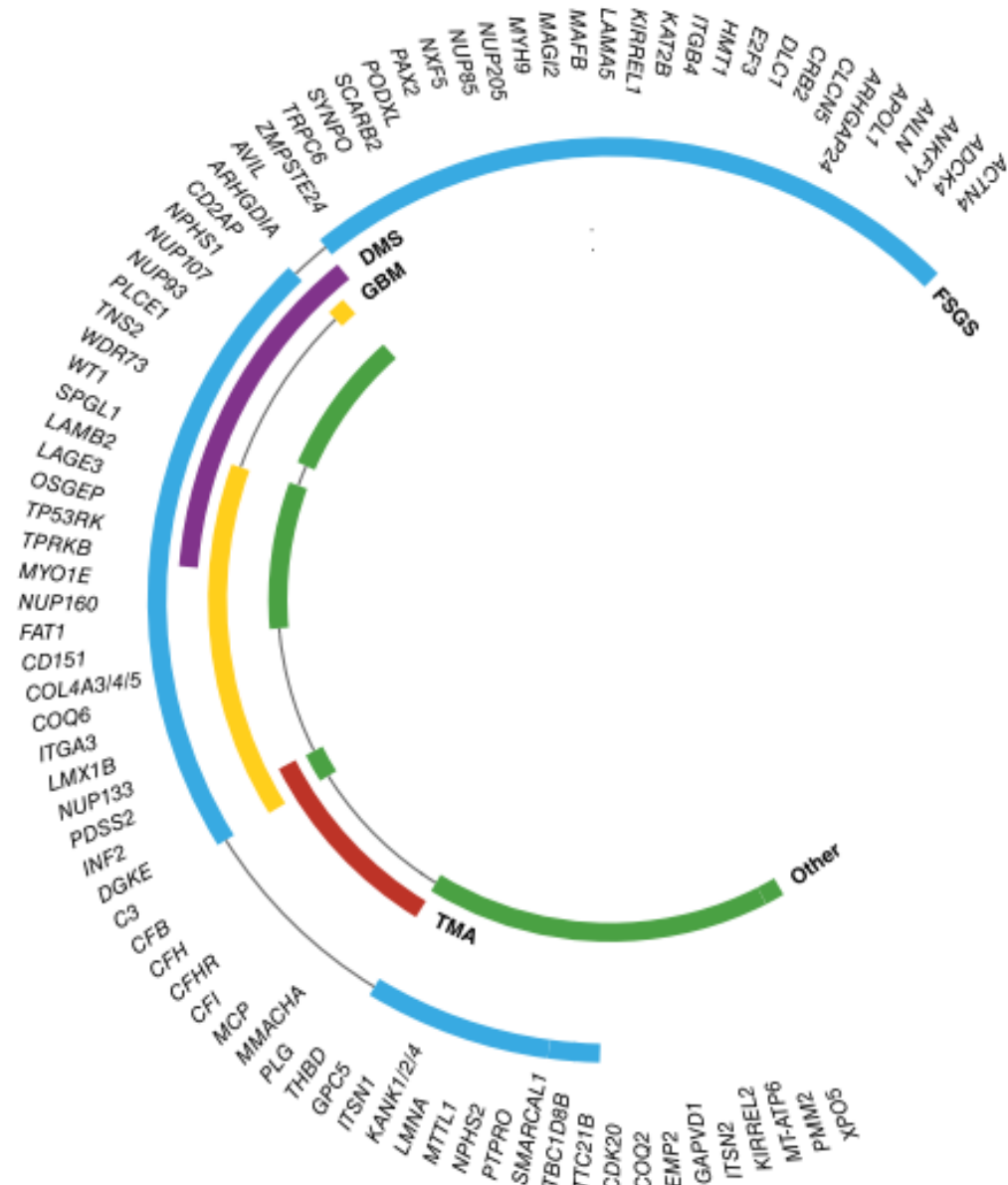
Μεγάλες μελέτες κοορτής έχουν ταυτοποιήσει τη γενετική αιτία σε περιπτώσεις κορτικο-ανθεκτικού νεφρωσικού συνδρόμου, που εμφανίζεται στην παιδική και την πρώιμη ενήλικη ζωή.

Στη μελέτη PodoNet, που συμπεριέλαβε 1655 ασθενείς, κορτικο-ανθεκτικό νεφρωσικό σύνδρομο μέχρι το 5ο έτος της ζωής καταγράφηκε στο 64% των ασθενών (συγγενές στο 6% όλων των περιπτώσεων). Οι πιο συχνές ιστολογικές διαγνώσεις ήταν η εστιακή τμηματική σπειραματοσκλήρυνση (56%), η νόσος ελαχίστων αλλοιώσεων (21%) και η μεσαγγειοϋπερπλαστική σπειραματονεφρίτιδα (12%). Έλεγχος για μεταλλάξεις έλαβε χώρα σε 1174 ασθενείς και η γενετική αιτία αναδείχθηκε στο 23.6%. Μεταξύ 14 γονιδίων, οι πιο συχνές μεταλλάξεις αφορούσαν τα γονίδια: *NPHS2*, *WT1*, *NPHS1*. Η αναλογία των ασθενών με γενετική αιτία μειώθηκε με την αύξηση της ηλικίας εμφάνισης της νόσου (66% στις περιπτώσεις συγγενούς νεφρωσικού συνδρόμου, 15-16% στην σχολική-εφηβική ηλικία) (Trautmann et al., 2015).

Παρόμοια ευρήματα ανευρέθηκαν και στην καταγραφή της ομάδας SRNS από 1783 οικογένειες σε Αμερική, Ευρώπη και Ασία. Μονογονιδιακή αιτία κορτικο-ανθεκτικού νεφρωσικού συνδρόμου με εμφάνιση πριν την ηλικία των 25 ετών ταυτοποιήθηκε στο 29.5% των οικογενειών. Το ποσοστό αυτό συσχετίστηκε αντίστροφα με την ηλικία έναρξης της νόσου (μέχρι 3 μηνών 69.4%, 4-12 μηνών 49.7%, 1-6 ετών 25.3%, 7-12 ετών 17.8%, 13-18 ετών 10.8%). Η ύπαρξη μεταλλάξεων σε υπολειπόμενα γονίδια (*NPHS1*, *LAMB2*, *PLCE1*) ήταν συχνότερη στην πρώιμη παιδική ηλικία, ενώ σε επικρατή (*INF2*, *TRPC6*) στην πρώιμη ενήλικη ζωή. Μεταλλάξεις σε γονίδια, που υπεισέρχονται στην οδό βιοσύνθεσης του συνένζυμου Q10 (*COQ2*, *COQ6*, *PDSS2*, *ADCK4*) βρέθηκαν στο 1% των περιπτώσεων κορτικο-ανθεκτικού νεφρωσικού συνδρόμου (Sadowski et al., 2015).

Μεταλλάξεις του γονιδίου *COL4A3-5*, εκτός από το σύνδρομο Alport και τη νόσο της λεπτής μεμβράνης, αναφέρθηκε ότι συσχετίζονται και με FSGS. Σε μελέτη στο Ηνωμένο Βασίλειο (81 άτομα από 76 οικογένειες) οι μεταλλάξεις αυτές βρέθηκαν στο 38% των οικογενειών με οικογενή FSGS και στο 6% αυτών με σποραδική μορφή. Περισσότερες από το 50% των περιπτώσεων αφορούσαν στο *COL4A5*. Οι ασθενείς

με τις μεταλλάξεις ήταν νεότεροι κατά την εμφάνιση της νόσου και είχαν με μεγαλύτερη πιθανότητα οικογενειακό ιστορικό, αιματοουρία και ανωμαλίες της βασικής μεμβράνης (Gast et al., 2016). Σε καταγραφή (193 άτομα από 179 οικογένειες) από το Τορόντο, 55% των αδιαμφισβήτητα παθολογικών μεταλλάξεων αφορούσαν στο *COL4A3-5* και τα περισσότερα άτομα με αυτές είχαν κάποια ένδειξη ανωμαλιών της σπειραματικής βασικής μεμβράνης. Η εκτιμώμενη ηλικία (έτη, 58, 95% CI: 49, 69) για την εμφάνιση τελικού σταδίου νεφρικής ανεπάρκειας ήταν μεγαλύτερη από την αναφερόμενη στη βιβλιογραφία (Yao et al., 2019). 30% των παθολογικών γενετικών παραλλαγών αντιπροσωπεύονταν από μεταλλάξεις του γονιδίου του κολλαγόνου (*COL4A3*: 9%, *COL4A4*: 7%, *COL4A5*: 14%) και σε κοορτή 3315 ασθενών με διάφορα αίτια ΧΝΝ στις ΗΠΑ (Groopman et al., 2019).



Εικόνα 17. Γενετικές μεταλλάξεις σχετίζονται με ποικίλα πρότυπα σπειραματικής βλάβης. Στο ¼ των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες- κυτταρικά συστατικά, οι μεταλλάξεις έχουν σαν αποτέλεσμα βλάβες στη GBM καθώς και FSGS και/ή DMS. Μεταλλάξεις σε δύο γονίδια, το *INF2* και το *DGKE*, σχετίζονται με FSGS, βλάβες στη GBM και θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια (TMA). Πολλές γονιδιακές μεταλλάξεις οδηγούν επίσης σε άλλα παθολογοανατομικά πρότυπα όπως η νόσος ελαχίστων αλλοιώσεων (MCD), η collapsing FSGS (ρικνωτικός τύπος), η μεμβρανούπερπλαστική σπειραματονεφρίτιδα (MPGN), η μεσαγγειακή υπερπλασία και η διάταση των σωληναρίων (Li et al., 2020).

ΤΡΕΧΟΥΣΕΣ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

Καθώς οι βλάβες του σπειραματικού φραγμού διήθησης οδηγούν σε αλβουμινουρία, η συντηρητική θεραπεία στηρίζεται: α) στον αποκλεισμό του άξονα ρενίνης-αγγειοτενσίνης- αλδοστερόνης, β) στη βελτιστοποίηση των παραγόντων κινδύνου για τη νεφρική νόσο, όπως η ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και γ) στην υποκατάσταση της νεφρικής λειτουργίας με αιμοκάθαρση ή μεταμόσχευση.

Στο σύνδρομο Alport η πρώιμη έναρξη αγωγής με αποκλεισμό του άξονα προσφέρει θεραπευτικό όφελος. Σε πολυκεντρική Γερμανική μελέτη σε παιδιά 3-6 ετών η χορήγηση ραμιπρίλης ελάττωσε κατά το ήμισυ περίπου την εξέλιξη της νεφρικής νόσου (N=22 τυχαίοποιημένο σκέλος: HR 0.51 [95% CI 0.12, 2.20], N=44 σε ανοικτής παρακολούθησης σκέλος: HR 0.53 [95% CI 0.22, 1.29]), αν και το αποτέλεσμα δεν έφθασε στην στατιστική σημαντικότητα (Gross et al., 2020).

Επιπρόσθετα, η γενετική διάγνωση συνεισφέρει στην καλύτερη κατανόηση της σχέσης γονοτύπου-φαινοτύπου των νόσων και στην πρόγνωση και κατηγοριοποίηση των ασθενών για αντιμετώπιση. Επίσης, η εντόπιση γενετικής παραλλαγής που σχετίζεται με εξωνεφρικές εκδηλώσεις κατευθύνει στην αναζήτηση αυτών των χαρακτηριστικών. Επειδή οι περισσότερες περιπτώσεις νεφρωσικού συνδρόμου λόγω γενετικών ανωμαλιών είναι ανθεκτικές στα κορτικοειδή και την ανοσοκατασταλτική αγωγή η πρώιμη διάγνωση καθιστά εφικτή τη μη αναγκαία χρήση τους. Από την άλλη πλευρά, ασθενείς με παραλλαγές στα γονίδια *NUP93*, *PTPRO*, *PLCE1*, *DLC1*, *CDK20*, *TNS2*, *ITSN1*, *ITSN2*, και *MAGI2* παρουσίασαν μερική ύφεση με κορτικοειδή και/ή ανοσοκαταστολή, και αυτό θα μπορούσε μελλοντικά να οδηγήσει σε δοκιμαστική θεραπεία με βάση τον γονότυπο του ασθενούς. Η κατανόηση του γενετικού υπόβαθρου των νόσων έχει οδηγήσει σε αποτελεσματικές θεραπείες για το νεφρωσικό σύνδρομο που σχετίζεται με ανεπάρκεια του συνενζύμου Q10 αλλά και για το aHUS. Η χορήγηση eculizumab, ανθρωποποιημένου μονοκλωνικού αντισώματος εναντίον του C5 παράγοντα, έφερε επανάσταση στην αντιμετώπιση των περιπτώσεων aHUS, που σχετίζονται με την οδό του συμπληρώματος (Li et al., 2020).

Επιπλέον, αν και οι ασθενείς με κορτικο-ανθεκτικό νεφρωσικό σύνδρομο και επιβεβαιωμένη γενετική διάγνωση έχουν αυξημένο κίνδυνο εξέλιξης σε νεφρική ανεπάρκεια, ο κίνδυνος επανεμφάνισης της νόσου μετά από μεταμόσχευση είναι

χαμηλός (4.5% έναντι 28.5% στους χωρίς γενετική νόσο) (Trautmann et al., 2015). Σε περίπτωση αυτοσωμικού επικρατούς γονιδίου ο κίνδυνος εμφάνισης νεφρωσικού συνδρόμου είναι αυξημένος τόσο για τον ζώντα - πιθανό - δότη, όσο και το λήπτη. Όμως, σε μετάλλαξη υπολειπόμενου γονιδίου η δωρεά είναι αποδεκτή, καθώς ο κίνδυνος υποτροπής του νεφρωσικού συνδρόμου είναι μικρός. Αυτό δεν ισχύει για δότες φορείς της μετάλλαξης κινδύνου της APOL1, όπου ο μακροχρόνιος κίνδυνος νεφρικής νόσου είναι μεγαλύτερος. Αντίθετα, η ανεύρεση αρνητικής γενετικής εξέτασης συσχετίζεται με κίνδυνο υποτροπής που φθάνει στο 50%. Η ομάδα αυτή θεωρείται ότι έχει κάποιο «κυκλοφορούντα παράγοντα», που συντελεί στην υποτροπή και είναι ξεχωριστή από το νεφρωσικό σύνδρομο γενετικής αιτιολογίας (Bierzynska and Saleem, 2018).

Η καλύτερη κατανόηση της βιολογίας του πειραματικού φραγμού και ο περαιτέρω έλεγχος σε μεγάλο εύρος στον πληθυσμό θα αυξήσει αναμφίβολα το πεδίο της γενετικής διερεύνησης για την επίτευξη μοριακής διάγνωσης.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ικανότητά μας για επίτευξη μοριακής διάγνωσης σε παιδιά και ενήλικες με σπειραματική νόσο έχει εξελιχθεί τις τελευταίες 3 δεκαετίες λόγω της προόδου στο πεδίο της γενετικής, ιδιαίτερα με τη χρήση της αλληλούχισης επόμενης γενιάς (NGS) και την εφαρμογή γονιδιακών πάνελ που επιτρέπει την ταχεία και με σχετικά χαμηλό κόστος αλληλούχιση συγκεκριμένων γονιδιωματικών περιοχών, οι οποίες απαιτούν μήνες επεξεργασίας με την κλασική αλληλούχιση Sanger (Sanger Sequencing), αλλά και της αλληλούχισης του συνόλου των εξονίων (WES), που όμως έχει μεγαλύτερο κόστος και είναι πιο πιθανό να αναγνωρίσει παραλλαγές άγνωστης σημασίας δυσχεραίνοντας την ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Ο συνεχώς διευρυνόμενος κατάλογος των γενετικών διαταραχών παρέχει επίσης σημαντικές πληροφορίες για την υποκείμενη βιολογία του σπειραματικού διηθητικού φραγμού και αναδεικνύει τον κεντρικό ρόλο των ποδοκυττάρων ως βασικό συστατικό αυτού και τη συμμετοχή τους στην παθογένεια τόσο των κληρονομούμενων όσο και των επίκτητων πρωτεϊνουρικών νόσων. Ο κομβικός ρόλος του ποδοκυττάρου έγκειται τόσο στο σχισμοειδές διάφραγμα και τον κυτταροσκελετό της ακτίνης όσο και στις αλληλεπιδράσεις τους με τη σπειραματική βασική μεμβράνη.

Η απόφαση για τη διενέργεια γενετικού ελέγχου εξαρτάται από την κλινική εικόνα του ασθενούς και την πληθυσμιακή ομάδα στην οποία ανήκει. Σε γενικές γραμμές, η πιθανότητα θετικού γενετικού ελέγχου είναι υψηλή στις ακόλουθες ομάδες ασθενών:

- Παιδιατρικοί ασθενείς με κορτικο-ανθεκτικό νεφρωσικό σύνδρομο
- Ενήλικες και παιδιατρικοί ασθενείς με ιστολογικά επιβεβαιωμένη FSGS και οικογενειακό ιστορικό χρόνιας νεφρικής νόσου (ιδίως με πρωτεϊνουρία ή/και αιματουρία). Το πρότυπο κληρονομικότητας (π.χ. αυτοσωμικό επικρατές, αυτοσωμικό υπολειπόμενο, φυλοσύνδετο) μπορεί να βοηθήσει στην καθοδήγηση του γενετικού ελέγχου
- Ασθενείς με ιστολογικά επιβεβαιωμένη FSGS και συνδρομική εικόνα (π.χ. δερματικές βλάβες, κώφωση, νευρολογικές/ οφθαλμικές/ σκελετικές ανωμαλίες, διαβήτης, ηπατοσπληνομεγαλία, μεταβολική οξέωση)
- Ασθενείς με FSGS αδιευκρίνιστης αιτίας στους οποίους η κλινική εικόνα και τα ιστολογικά χαρακτηριστικά δεν συμφωνούν (π.χ. απουσία νεφρωσικού

συνδρόμου αλλά διάχυτη απαλοιφή των ποδοειδών προσεκβολών στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο)

Θα πρέπει, ωστόσο, να σημειωθεί ότι ένα αρνητικό αποτέλεσμα στον γενετικό έλεγχο δεν αποκλείει πλήρως τη γενετική FSGS, καθώς ο ασθενής μπορεί να έχει μετάλλαξη σε ένα νέο γονίδιο που δεν έχει ακόμη ανακαλυφθεί.

Η γνώση του μοριακού/γενετικού υπόβαθρου των σπειραματοπαθειών είναι σημαντική για:

- Την κατανόηση της παθογένειάς τους
- Την προσπάθεια συσχετισμού γονοτύπου - φαινοτύπου
- Την πρόβλεψη της έκβασης
- Το σχεδιασμό της θεραπείας (π.χ. αποφυγή χορήγησης κορτικοειδών ή ανοσοκαταστολής όπου δεν αναμένεται ανταπόκριση)
- Τη λήψη αποφάσεων για μεταμόσχευση
- Τον έγκαιρο έλεγχο άλλων μελών μιας οικογένειας

Μέχρι σήμερα, η πιο αποτελεσματική θεραπεία μας για αυτές τις διαταραχές είναι ο αποκλεισμός του άξονα ρενίνης- αγγειοτενσίνης- αλδοστερόνης. Η ανάλυση γονιδίων των ενδοθηλιακών κυττάρων αναδεικνύει την ευαισθησία του σπειραματικού ενδοθηλίου στη διαταραχή ρύθμισης του συμπληρώματος και η κατανόηση του βιολογικού υπόβαθρου της διαταραχής έχει οδηγήσει σε εξαιρετικά αποτελεσματική θεραπεία.

Η συνεχιζόμενη έρευνα για την πλήρη κατανόηση της δομής και της λειτουργίας των μορίων που απαρτίζουν τον σπειραματικό διηθητικό φραγμό είναι εξαιρετικής σημασίας καθώς αποτελεί προϋπόθεση για την ανακάλυψη νέων, στοχευμένων θεραπειών για τη διατήρηση της νεφρικής λειτουργίας και την καθυστέρηση της εξέλιξης της νεφρικής νόσου.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abrahamson, D.R. (2012). Role of the Podocyte (and Glomerular Endothelium) in Building the GBM. *Seminars in Nephrology*, [online] 32(4), pp.342–349. doi:<https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2012.06.005>.

Al-Hussain, T., Ali, A. and Akhtar, M. (2014). Wilms Tumor. *Advances In Anatomic Pathology*, 21(3), pp.166–173. doi:<https://doi.org/10.1097/pap.0000000000000017>.

Ashraf, S., Gee, H.Y., Woerner, S.L., Xie, L.X., Vega-Warner, V., Lovric, S., Fang, H., Song, X., Cattran, D.C., Avila-Casado, C., Paterson, A.D., Nitschke, P., Bole-Feysot, C., Cochat, P., Esteve-Rudd, J., Haberberger, B., Allen, S., Zhou, W., Airik, R. and Otto, E.A. (2013). ADCK4 mutations promote steroid-resistant nephrotic syndrome through CoQ10 biosynthesis disruption. *J Clin Invest*, 123(12), pp.5179–5189. doi:<https://doi.org/10.1172/jci69000>.

Ashraf, S., Kudo, H., Rao, J., Kikuchi, A., Widmeier, E., Lawson, J.A., Tan, W., Hermle, T., Warejko, J.K., Shril, S., Airik, M., Jobst-Schwan, T., Lovric, S., Braun, D.A., Gee, H.Y., Schapiro, D., Majmundar, A.J., Sadowski, C.E., Pabst, W.L. and Daga, A. (2018). Mutations in six nephrosis genes delineate a pathogenic pathway amenable to treatment. *Nature Communications*, [online] 9(1), p.1960. doi:<https://doi.org/10.1038/s41467-018-04193-w>.

Balbas, M.D., Burgess, M.R., Murali, R., Wongvipat, J., Skaggs, B.J., Mundel, P., Weins, A. and Sawyers, C.L. (2014). MAGI-2 scaffold protein is critical for kidney barrier function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(41), pp.14876–14881. doi:<https://doi.org/10.1073/pnas.1417297111>.

Barua, M., Brown, E.R., Charoonratana, V.T., Genovese, G., Sun, H. and Pollak, M.R. (2013). Mutations in the INF2 gene account for a significant proportion of familial but not sporadic focal and segmental glomerulosclerosis. *Kidney International*, 83(2), pp.316–322. doi:<https://doi.org/10.1038/ki.2012.349>.

Barua, M., Shieh, E., Schlondorff, J., Genovese, G., Kaplan, B.S. and Pollak, M.R. (2014). Exome sequencing and in vitro studies identified podocalyxin as a candidate gene for focal and segmental glomerulosclerosis. *Kidney International*, 85(1), pp.124–133. doi:<https://doi.org/10.1038/ki.2013.354>.

Becker-Cohen, R., Bruschi, M., Rinat, C., Feinstein, S., Zennaro, C., Ghiggeri, G.M. and Frishberg, Y. (2007). Recurrent Nephrotic Syndrome in Homozygous Truncating NPHS2 Mutation Is Not Due to Anti-Podocin Antibodies. *American Journal of Transplantation*, 7(1), pp.256–260. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2006.01605.x>.

Bierzynska, A. and Saleem, M.A. (2017). Deriving and understanding the risk of post-transplant recurrence of nephrotic syndrome in the light of current molecular and genetic advances. *Pediatric Nephrology*, 33(11), pp.2027–2035. doi:<https://doi.org/10.1007/s00467-017-3793-2>.

Bierzynska, A., Soderquest, K., Dean, P., Colby, E., Rollason, R., Jones, C., Inward, C.D., McCarthy, H.J., Simpson, M.A., Lord, G.M., Williams, M., Welsh, G.I., Koziell, A.B. and Saleem, M.A. (2017). MAGI2 Mutations Cause Congenital Nephrotic Syndrome. *Journal of the American Society of Nephrology*, [online] 28(5), pp.1614–1621. doi:<https://doi.org/10.1681/asn.2016040387>.

Blaine, J. and Dylewski, J. (2020). Regulation of the Actin Cytoskeleton in Podocytes. *Cells*, [online] 9(7), p.1700. doi:<https://doi.org/10.3390/cells9071700>.

Bongers, E.M.H.F., Huysmans, F.T., Levtchenko, E., de Rooy, J.W., Blickman, J.G., Admiraal, R.J.C., Huygen, P.L.M., Cruysberg, J.R.M., Toolens, P.A.M.P., Prins, J.B., Krabbe, P.F.M., Borm, G.F., Schoots, J., van Bokhoven, H., van Remortele, A.M.F., Hoefsloot, L.H., van Kampen, A. and Knoers, N.V.A.M. (2005). Genotype–phenotype studies in nail-patella syndrome show that LMX1B mutation location is involved in the risk of developing nephropathy. *European Journal of Human Genetics*, 13(8), pp.935–946. doi:<https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201446>.

Boute, N., Gribouval, O., Roselli, S., Benessy, F., Lee, H., Fuchshuber, A., Dahan, K., Gubler, M.C., Niaudet, P. and Antignac, C. (2000). NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nature Genetics*, [online] 24(4), pp.349–354. doi:<https://doi.org/10.1038/74166>.

Boyer, O., Nevo, F., Plaisier, E., Funalot, B., Gribouval, O., Benoit, G., Cong, E.H., Arrondel, C., Tête, M.-J., Montjean, R., Richard, L., Karras, A., Pouteil-Noble, C., Balafrej, L., Bonnardeaux, A., Canaud, G., Charasse, C., Dantal, J., Deschenes, G. and Deteix, P. (2011). INF2 Mutations in Charcot–Marie–Tooth Disease with Glomerulopathy. *New England Journal of Medicine*, 365(25), pp.2377–2388. doi:<https://doi.org/10.1056/nejmoa1109122>.

Boyer, O., Woerner, S., Yang, F., Oakeley, E.J., Linghu, B., Gribouval, O., Tête, M.-J., Duca, J.S., Klickstein, L.B., Damask, A., Szustakowski, J.D., Heibel, F., Maignon, M., Baudouin, V., F. Chantrel, F., J. Champigneulle, J., Martin, L., Nitschke, P., Gubler, M.-C. and Johnson, K. (2013). LMX1B Mutations Cause Hereditary FSGS without Extrarenal Involvement. *Journal of The American Society of Nephrology*, 24(8), pp.1216–1222. doi:<https://doi.org/10.1681/asn.2013020171>.

Braun, D.A., Lovric, S., Schapiro, D., Schneider, R., Marquez, J., Asif, M., Hussain, M.S., Daga, A., Widmeier, E., Rao, J., Ashraf, S., Tan, W., Lusk, C.P., Kolb, A., Jobst-Schwan, T., Schmidt, J.M., Hoogstraten, C.A., Eddy, K., Kitzler, T.M. and Shril, S. (2018). Mutations in multiple components of the nuclear pore complex cause nephrotic syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, 128(10), pp.4313–4328. doi:<https://doi.org/10.1172/jci98688>.

Braun, D.A., Sadowski, C.E., Kohl, S., Lovric, S., Astrinidis, S.A., Pabst, W.L., Gee, H.Y., Ashraf, S., Lawson, J.A., Shril, S., Airik, M., Tan, W., Schapiro, D., Rao, J., Choi, W.-I., Hermle, T., Kemper, M.J., Pohl, M., Ozaltin, F. and Konrad, M. (2016). Mutations in nuclear pore genes NUP93, NUP205 and XPO5 cause steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nature Genetics*, 48(4), pp.457–465. doi:<https://doi.org/10.1038/ng.3512>.

Braun, D.A., Warejko, J.K., Ashraf, S., Tan, W., Daga, A., Schneider, R., Hermle, T., Jobst-Schwan, T., Widmeier, E., Majmundar, A.J., Nakayama, M., Schapiro, D., Rao, J., Schmidt, J.M., Hoogstraten, C.A., Hugo, H., Bakkaloğlu, S.A., Kari, J.A., El Desoky, S. and Daouk, G.H. (2019). Genetic variants in the *LAMA5* gene in pediatric nephrotic syndrome. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 34(3), pp.485–493. doi:<https://doi.org/10.1093/ndt/gfy028>.

Brenner, B.M. and Rector, F.C. (2008). *Brenner & Rector's the Kidney*. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier.

Bresin, E., Rurali, E., Caprioli, J., Sanchez-Corral, P., Fremeaux-Bacchi, V., Rodriguez de Cordoba, S., Pinto, S., Goodship, T.H.J., Alberti, M., Ribes, D., Valoti, E., Remuzzi, G. and Noris, M. (2013). Combined Complement Gene Mutations in Atypical Hemolytic Uremic Syndrome Influence Clinical Phenotype. *Journal of the American Society of Nephrology*, 24(3), pp.475–486. doi:<https://doi.org/10.1681/asn.2012090884>.

Brito, C. and Sousa, S. (2020). Non-Muscle Myosin 2A (NM2A): Structure, Regulation and Function. *Cells*, 9(7), p.1590. doi:<https://doi.org/10.3390/cells9071590>.

Brown, E.J., Schlöndorff, J.S., Becker, D.J., Tsukaguchi, H., Tonna, S.J., Uscinski, A.L., Higgs, H.N., Henderson, J.M. and Pollak, M.R. (2010). Mutations in the formin gene *INF2* cause focal segmental glomerulosclerosis. *Nature Genetics*, 42(1), pp.72–76. doi:<https://doi.org/10.1038/ng.505>.

Burghardt, T., Kastner, J., Suleiman, H., Rivera-Milla, E., Stepanova, N.G., Lottaz, C., Kubitza, M., Böger, C.A., Schmidt, S., Kronenberg, F., de Vries, U., Schmidt, H., Hertting, I., Kopp, J.B., Rascle, A., Moser, M., Heid, I.M., Warth, R., Spang, R. and Wegener, J. (2013). *LMX1B* is Essential for the Maintenance of Differentiated Podocytes in Adult Kidneys. *Journal of The American Society of Nephrology*, 24(11), pp.1830–1848. doi:<https://doi.org/10.1681/asn.2012080788>.

Buvall, L., Wallentin, H., Sieber, J., Andreeva, S., Choi, H.Y., Mündel, P. and Greka, A. (2017). Synaptopodin Is a Coincidence Detector of Tyrosine versus Serine/Threonine Phosphorylation for the Modulation of Rho Protein Crosstalk in Podocytes. *Journal of The American Society of Nephrology*, 28(3), pp.837–851. doi:<https://doi.org/10.1681/asn.2016040414>.

Caridi, G., Perfumo, F. and Ghiggeri, G.M. (2005). *NPHS2* (Podocin) Mutations in Nephrotic Syndrome. Clinical Spectrum and Fine Mechanisms. *Pediatric Research*, 57(5 Part 2), pp.54R61R. doi:<https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000160446.01907.b1>.

Challis, R.C., Ring, T., Xu, Y., Wong, E.K.S., Flossmann, O., Roberts, I.S.D., Ahmed, S., Wetherall, M., Salkus, G., Brocklebank, V., Fester, J., Strain, L., Wilson, V., Wood, K.M., Marchbank, K.J., Santibanez-Koref, M., Goodship, T.H.J. and Kavanagh, D. (2017). Thrombotic Microangiopathy in Inverted Formin 2–Mediated Renal Disease. *Journal of The American Society of Nephrology*, 28(4), pp.1084–1091. doi:<https://doi.org/10.1681/asn.2015101189>.

Chew, C. and Lennon, R. (2018). Basement Membrane Defects in Genetic Kidney Diseases. *Frontiers in Pediatrics*, [online] 6(11). doi:<https://doi.org/10.3389/fped.2018.00011>.

D'Agati, V.D., Kaskel, F.J. and Falk, R.J. (2011) 'Focal segmental glomerulosclerosis', *New England Journal of Medicine*, 365(25), pp. 2398–2411. doi:<https://doi.org/10.1056/nejmra1106556>.

De Vriese, A.S., Sethi, S., Nath, K.A., Glassock, R.J. and Fervenza, F.C. (2018). Differentiating Primary, Genetic, and Secondary FSGS in Adults: A Clinicopathologic Approach. *Journal of the American Society of Nephrology*, 29(3), pp.759–774. doi:<https://doi.org/10.1681/asn.2017090958>.

Diomedi-Camassei, F., Giandomenico, S., Santorelli, F.M., Caridi, G., Piemonte, F., Montini, G., Ghiggeri, G.M., Murer, L., Barisoni, L., Pastore, A., Muda, A.O., Valente, M.J., Bertini, E. and Montini, G. (2007). COQ2 Nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 18(10), pp.2773–2780. doi:<https://doi.org/10.1681/asn.2006080833>.

Doyonnas, R., Kershaw, D.B., Duhme, C., Merkens, H., Chelliah, S., Graf, T. and McNagny, K.M. (2001). Anuria, Omphalocele, and Perinatal Lethality in Mice Lacking the Cd34-Related Protein Podocalyxin. *Journal of Experimental Medicine*, 194(1), pp.13–28. doi:<https://doi.org/10.1084/jem.194.1.13>.

Drovandi, S., Lugani, F., Boyer, O., La Porta, E., Giordano, P., Hummel, A., Knebelmann, B., Cornet, J., Baujat, G., Lipska-Ziętkiewicz, B.S., Ghiggeri, G.M., Caridi, G. and Angeletti, A. (2022). Multicentric Carpotarsal Osteolysis Syndrome Associated Nephropathy: Novel Variants of MAFB Gene and Literature Review. *Journal of Clinical Medicine*, 11(15), pp.4423–4423. doi:<https://doi.org/10.3390/jcm11154423>.

Edwards, N., Rice, S.J., Raman, S., Hynes, A.M., Srivastava, S., Moore, I., Al-Hamed, M.H., Xu, Y., Santibanez-Koref, M., Thwaites, D.T., Gale, D.P. and Sayer, J.A. (2015). A novel LMX1B mutation in a family with end-stage renal disease of 'unknown cause'. *Clinical Kidney Journal*, 8(1), pp.113–119. doi:<https://doi.org/10.1093/ckj/sfu129>.

Elger, M., Sakai, T. and Kriz, W. (1998). The vascular pole of the renal glomerulus of rat. *Advances in Anatomy, Embryology, and Cell Biology*, [online] 139, pp.1–98. doi:<https://doi.org/10.1007/978-3-642-80449-6>.

Emma, F., Bertini, E., Salviati, L. and Montini, G. (2012). Renal involvement in mitochondrial cytopathies. *Pediatric Nephrology*, 27(4), pp.539–550. doi:<https://doi.org/10.1007/s00467-011-1926-6>.

Endlich, K., Kriz, W. and Witzgall, R. (2001). Update in podocyte biology. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 10(3), pp.331–340. doi:<https://doi.org/10.1097/00041552-200105000-00006>.

Faul, C.H. (2014). The Podocyte Cytoskeleton: Key to a Functioning Glomerulus in Health and Disease. *Contributions To Nephrology*, pp.22–53. doi:<https://doi.org/10.1159/000359923>.

Feng, D., Kumar, M., Muntel, J., Gurley, S.B., Birrane, G., Stillman, I.E., Ding, L., Wang, M., Ahmed, S., Schlöndorff, J.S., Alper, S.L., Ferrante, T., Marquez, S.L., Ng, C.F., Novak, R., Ingber, D.E., Steen, H. and Pollak, M.R. (2020). Phosphorylation of

ACTN4 Leads to Podocyte Vulnerability and Proteinuric Glomerulosclerosis. *Journal of The American Society of Nephrology*, 31(7), pp.1479–1495. doi:<https://doi.org/10.1681/asn.2019101032>.

Fogo, A.B., Lusco, M.A., Najafian, B. and Alpers, C.E. (2015). AJKD Atlas of Renal Pathology: Diffuse Mesangial Sclerosis. *American Journal of Kidney Diseases*, 66(4), pp.e23–e24. doi:<https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2015.08.007>.

Freedman, B.I. and Murea, M. (2012). Target Organ Damage in African American Hypertension: Role of APOL1. *Current Hypertension Reports*, 14(1), pp.21–28. doi:<https://doi.org/10.1007/s11906-011-0237-4>.

Funk, S.D., Lin, M.-H. and Miner, J.H. (2018). Alport syndrome and Pierson syndrome: Diseases of the glomerular basement membrane. *Matrix Biology*, [online] 71-72, pp.250–261. doi:<https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.04.008>.

Garg, P. (2018). A Review of Podocyte Biology. *American Journal of Nephrology*, 47(Suppl. 1), pp.3–13. doi:<https://doi.org/10.1159/000481633>.

Garg, P., Verma, R., Nihalani, D., Johnstone, D.B. and Holzman, L.B. (2007). Neph1 Cooperates with Nephrin To Transduce a Signal That Induces Actin Polymerization. *Molecular and Cellular Biology*, 27(24), pp.8698–8712. doi:<https://doi.org/10.1128/mcb.00948-07>.

Gast, C., Pengelly, R.J., Lyon, M., Bunyan, D.J., Seaby, E.G., Graham, N., Venkat-Raman, G. and Ennis, S. (2015). Collagen (COL4A) mutations are the most frequent mutations underlying adult focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 31(6), pp.961–970. doi:<https://doi.org/10.1093/ndt/gfv325>.

Gee, H.Y., Ashraf, S., Wan, X., Vega-Warner, V., Esteve-Rudd, J., Lovric, S., Fang, H., Hurd, T.W., Sadowski, C.E., Allen, S., Otto, E.A., Korkmaz, E., Washburn, J., Levy, S., Williams, D.R., Bakaloglu, S.A., Zolotnitskaya, A., Ozaltin, F., Zhou, W. and Hildebrandt, F. (2014). Mutations in EMP2 Cause Childhood-Onset Nephrotic Syndrome. *The American Journal of Human Genetics*, 94(6), pp.884–890. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.04.010>.

Gerke, P., Huber, T., Sellin, L., Benzing, T. and Walz, G. (2003). Homodimerization and Heterodimerization of the Glomerular Podocyte Proteins Nephrin and NEPH1. *Journal of the American Society of Nephrology*, 14(4), pp.918–926. doi:<https://doi.org/10.1097/01.asn.0000057853.05686.89>.

Gigante, M., Pontrelli, P., Montemurno, E., Roca, L., Aucella, F., Penza, R., Caridi, G., Ranieri, E., Ghiggeri, G.M. and Gesualdo, L. (2009). CD2AP mutations are associated with sporadic nephrotic syndrome and focal segmental glomerulosclerosis (FSGS). *Nephrology Dialysis Transplantation*, 24(6), pp.1858–1864. doi:<https://doi.org/10.1093/ndt/gfn712>.

Groopman, E.E., Marasa, M., Cameron-Christie, S., Petrovski, S., Aggarwal, V.S., Milo-Rasouly, H., Li, Y., Zhang, J., Nestor, J., Krithivasan, P., Lam, W.Y., Mitrotti, A., Piva, S., Kil, B.H., Chatterjee, D., Reingold, R., Bradbury, D., DiVecchia, M., Snyder, H. and Mu, X. (2019). Diagnostic Utility of Exome Sequencing for Kidney Disease.

New England Journal of Medicine, [online] 380(2), pp.142–151. doi:<https://doi.org/10.1056/nejmoa1806891>.

Gross, O., Tönshoff, B., Weber, L.T., Pape, L., Latta, K., Fehrenbach, H., Lange-Sperandio, B., Zappel, H., Hoyer, P., Staude, H., König, S., John, U., Gellermann, J., Hoppe, B., Galiano, M., Hoecker, B., Ehren, R., Lerch, C., Kashtan, C.E. and Harden, M. (2020). A multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind phase 3 trial with open-arm comparison indicates safety and efficacy of nephroprotective therapy with ramipril in children with Alport's syndrome. *Kidney International*, 97(6), pp.1275–1286. doi:<https://doi.org/10.1016/j.kint.2019.12.015>.

Grunkemeyer, J.A., Kwoh, C., Huber, T.B. and Shaw, A.S. (2005). CD2-associated Protein (CD2AP) Expression in Podocytes Rescues Lethality of CD2AP Deficiency. *Journal of Biological Chemistry*, 280(33), pp.29677–29681. doi:<https://doi.org/10.1074/jbc.m504004200>.

Gurel, P.S., Ge, P., Grintsevich, E.E., Shu, R., Blanchoin, L., Zhou, Z.H., Reisler, E. and Higgs, H.N. (2014). INF2-mediated severing through actin filament encirclement and disruption. *Current Biology*, [online] 24(2), pp.156–164. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.12.018>.

Haraldsson, B. and Jeansson, M. (2009). Glomerular filtration barrier. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 18(4), pp.331–335. doi:<https://doi.org/10.1097/mnh.0b013e32832c9dba>.

Harita, Y., Urae, S., Akashio, R., Isojima, T., Miura, K., Yamada, T., Yamamoto, K., Miyasaka, Y., Furuyama, M., Takemura, T., Gotoh, Y., Takizawa, H., Tamagaki, K., Ozawa, A., Ashida, A., Hattori, M., Oka, A. and Kitanaka, S. (2020). Clinical and genetic characterization of nephropathy in patients with nail-patella syndrome. *European Journal of Human Genetics*, [online] 28(10), pp.1414–1421. doi:<https://doi.org/10.1038/s41431-020-0655-3>.

Harshman, L.A. and Brophy, P.D. (2012). PAX2 in human kidney malformations and disease. *Pediatric Nephrology*, 27(8), pp.1265–1275. doi:<https://doi.org/10.1007/s00467-011-2053-0>.

Has, C., Spartà, G., Kiritsi, D., Weibel, L., Moeller, A., Vega-Warner, V., Waters, A., He, Y., Anikster, Y., Esser, P., Straub, B.K., Hausser, I., Bockenbauer, D., Dekel, B., Hildebrandt, F., Bruckner-Tuderman, L. and Laube, G.F. (2012). Integrin $\alpha 3$ Mutations with Kidney, Lung, and Skin Disease. *The New England Journal of Medicine*, [online] 366(16), pp.1508–1514. doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1110813>.

He, F.-F., Chen, S., Su, H., Meng, X.-F. and Zhang, C. (2013). Actin-associated Proteins in the Pathogenesis of Podocyte Injury. *Current Genomics*, 14(7), pp.477–484. doi:<https://doi.org/10.2174/13892029113146660014>.

Heeringa, S.F., Chernin, G., Chaki, M., Zhou, W., Sloan, A., Ji, Z., Xie, L.X., Salviati, L., Hurd, T.W., Vega-Warner, V., Killen, P.D., Raphael, Y., Ashraf, S., Ovunc, B., Schoeb, D.S., McLaughlin, H.M., Airik, R., Vlangos, C.N., Gbadegesin, R. and Hinkes, B. (2011). COQ6 mutations in human patients produce nephrotic syndrome with

sensorineural deafness. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(5), pp.2013–2024. doi:<https://doi.org/10.1172/jci45693>.

Hinkes, B., Wiggins, R.C., Gbadegesin, R., Vlangos, C.N., Seelow, D., Nürnberg, G., Garg, P., Verma, R., Chaib, H., Hoskins, B.E., Ashraf, S., Becker, C., Hennies, H.C., Goyal, M., Wharram, B.L., Schachter, A.D., Mudumana, S., Drummond, I., Kerjaschki, D. and Waldherr, R. (2006). Positional cloning uncovers mutations in PLCE1 responsible for a nephrotic syndrome variant that may be reversible. *Nature Genetics*, 38(12), pp.1397–1405. doi:<https://doi.org/10.1038/ng1918>.

Hirakawa, M., Tsuruya, K., Yotsueda, H., Tokumoto, M., Ikeda, H., Katafuchi, R., Fujimi, S., Hirakata, H. and Iida, M. (2006). Expression of synaptopodin and GLEPP1 as markers of steroid responsiveness in primary focal segmental glomerulosclerosis. *Life Sciences*, 79(8), pp.757–763. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.02.031>.

Holmberg, C. and Jalanko, H. (2014). Congenital nephrotic syndrome and recurrence of proteinuria after renal transplantation. *Pediatric Nephrology*, 29(12), pp.2309–2317. doi:<https://doi.org/10.1007/s00467-014-2781-z>.

Hudson, B.G., Tryggvason, K., Sundaramoorthy, M. and Neilson, E.G. (2003). Alport's Syndrome, Goodpasture's Syndrome, and Type IV Collagen. *New England Journal of Medicine*, 348(25), pp.2543–2556. doi:<https://doi.org/10.1056/nejmra022296>.

Huttunen, N., Rapola, J., Vilksa, J. and Hallman, N. (1980). Renal pathology in congenital nephrotic syndrome of Finnish type: a quantitative light microscopic study on 50 patients. *International Journal of Pediatric Nephrology*, 1(1), pp.10–16.

Ichimura, K., Miyazaki, N., Sadayama, S., Murata, K., Koike, M., Nakamura, K., Ohta, K. and Sakai, T. (2015). Three-dimensional architecture of podocytes revealed by block-face scanning electron microscopy. *Scientific Reports*, 5(1). doi:<https://doi.org/10.1038/srep08993>.

Ihalmo, P., Schmid, H., Rastaldi, M.P., Mattinzoli, D., Langham, R.G., Luimula, P., Kilpikari, R., Lassila, M., Gilbert, R.E., Kerjaschki, D., Kretzler, M. and Holthöfer, H. (2007). Expression of filtrin in human glomerular diseases. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 22(7), pp.1903–1909. doi:<https://doi.org/10.1093/ndt/gfm135>.

Ihalmo, P., Wessman, M., Kaunisto, M.A., Kilpikari, R., Parkkonen, M., Forsblom, C., Holthöfer, H. and Groop, P.H. (2008). Association analysis of podocyte slit diaphragm genes as candidates for diabetic nephropathy. *Diabetologia*, 51(1), pp.86–90. doi:<https://doi.org/10.1007/s00125-007-0854-2>.

Ilatovskaya, D.V. and Staruschenko, A. (2015). TRPC6 channel as an emerging determinant of the podocyte injury susceptibility in kidney diseases. *American Journal of Physiology-renal Physiology*, 309(5), pp.F393–F397. doi:<https://doi.org/10.1152/ajprenal.00186.2015>.

Inoue, S. (1994). Ultrastructural Architecture of Basement Membranes. *Contributions To Nephrology*, 107, pp.21–28. doi:<https://doi.org/10.1159/000422957>.

Iványi, B., Rácz, G.Z., Gál, P., Brinyiczki, K., Bódi, I., Kalmár, T., Maróti, Z. and Bereczki, C. (2018). Diffuse mesangial sclerosis in a PDSS2 mutation-induced

coenzyme Q10 deficiency. *Pediatric Nephrology*, 33(3), pp.439–446. doi:<https://doi.org/10.1007/s00467-017-3814-1>.

Izu, A., Yanagida, H., Sugimoto, K., Fujita, S., Sakata, N., Wada, N., Okada, M. and Takemura, T. (2011). Pathogenesis of Focal Segmental Glomerular Sclerosis in a Girl with the Partial Deletion of Chromosome 6p. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 223(3), pp.187–192. doi:<https://doi.org/10.1620/tjem.223.187>.

Johnson, R., Feehally, J., Floege, J. and Tonelli, M. (2018). *Comprehensive Clinical Nephrology*. 6th ed. S.L.: Elsevier - Health Science.

Jones, N., Blasutig, I.M., Eremina, V., Ruston, J., Bladt, F., Li, H., Huang, H., Larose, L., Li, S.S., Takano, T., Quaggin, S.E. and Pawson, T. (2006). Nck adaptor proteins link nephrin to the actin cytoskeleton of kidney podocytes. *Nature*, 440(7085), pp.818–823. doi:<https://doi.org/10.1038/nature04662>.

Joshi, S., Andersen, R., Jespersen, B. and Rittig, S. (2013). Genetics of steroid-resistant nephrotic syndrome: a review of mutation spectrum and suggested approach for genetic testing. *Acta Paediatrica (Oslo, Norway: 1992)*, [online] 102(9), pp.844–856. doi:<https://doi.org/10.1111/apa.12317>.

Kang, H.G., Lee, M., Lee, K.B., Hughes, M.R., Kwon, B.S., Lee, S.M., McNagny, K.M., Ahn, Y.H., Ko, J.M., Ha, I.S., Choi, M. and Cheong, H.I. (2017). Loss of podocalyxin causes a novel syndromic type of congenital nephrotic syndrome. *Experimental and Molecular Medicine*, 49(12), pp.e414–e414. doi:<https://doi.org/10.1038/emm.2017.227>.

Kaplan, J.M., H Kim, S., North, K.N., Rennke, H., A Correia, L., Tong, H.-Q., Mathis, B.J., Rodríguez-Pérez, J.-C., Allen, P.G., Beggs, A.H. and Pollak, M.R. (2000). Mutations in ACTN4, encoding α -actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nature Genetics*, 24(3), pp.251–256. doi:<https://doi.org/10.1038/73456>.

Karamatic Crew, V., Burton, N., Kagan, A., Green, C.A., Levene, C., Flinter, F., Brady, R.L., Daniels, G. and Anstee, D.J. (2004). CD151, the first member of the tetraspanin (TM4) superfamily detected on erythrocytes, is essential for the correct assembly of human basement membranes in kidney and skin. *Blood*, 104(8), pp.2217–2223. doi:<https://doi.org/10.1182/blood-2004-04-1512>.

Kawachi, H. and Fukusumi, Y. (2020). New insight into podocyte slit diaphragm, a therapeutic target of proteinuria. *Clinical and Experimental Nephrology*, 24(3), pp.193–204. doi:<https://doi.org/10.1007/s10157-020-01854-3>.

Krendel, M., Kim, S.V., Willinger, T., Wang, T., Kashgarian, M., Flavell, R.A. and Mooseker, M.S. (2009). Disruption of Myosin 1e Promotes Podocyte Injury. *Journal of the American Society of Nephrology*, [online] 20(1), pp.86–94. doi:<https://doi.org/10.1681/ASN.2007111172>.

Labat-de-Hoz, L. and Alonso, M.A. (2020). The formin INF2 in disease: progress from 10 years of research. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 77(22), pp.4581–4600. doi:<https://doi.org/10.1007/s00018-020-03550-7>.

Lemaire, M., Frémeaux-Bacchi, V., Schaefer, F., Choi, M., Tang, W.H., Le Quintrec, M., Fakhouri, F., Taque, S., Nobili, F., Martinez, F., Ji, W., Overton, J.D., Mane, S.M., Nürnberg, G., Altmüller, J., Thiele, H., Morin, D., Deschenes, G., Baudouin, V. and Llanas, B. (2013). Recessive mutations in DGKE cause atypical hemolytic-uremic syndrome. *Nature Genetics*, 45(5), pp.531–536. doi:<https://doi.org/10.1038/ng.2590>.

Lemley, K.V. (2009). Kidney disease in nail–patella syndrome. *Pediatric Nephrology*, 24(12), pp.2345–2354. doi:<https://doi.org/10.1007/s00467-008-0836-8>.

Lemoine, S., Panaye, M., Rabeyrin, M., Errazuriz-Cerda, E., Mousson de Camaret, B., Petiot, P., Juillard, L. and Guebre-Egziabher, F. (2018). Renal Involvement in Neuropathy, Ataxia, Retinitis Pigmentosa (NARP) Syndrome: A Case Report. *American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation*, [online] 71(5), pp.754–757. doi:<https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2017.09.020>.

Lennon, R., Byron, A., Humphries, J.D., Randles, M.J., Carisey, A., Murphy, S., Knight, D., Brenchley, P.E., Zent, R. and Humphries, M.J. (2014a). Global Analysis Reveals the Complexity of the Human Glomerular Extracellular Matrix. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, [online] 25(5), pp.939–951. doi:<https://doi.org/10.1681/ASN.2013030233>.

Lennon, R., Randles, M.J. and Humphries, M.J. (2014b). The Importance of Podocyte Adhesion for a Healthy Glomerulus. *Frontiers in Endocrinology*, 5(160), pp.1–17. doi:<https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00160>.

Li, A.S., Ingham, J.F. and Lennon, R. (2020). Genetic Disorders of the Glomerular Filtration Barrier. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, [online] 15(12), pp.1818–1828. doi:<https://doi.org/10.2215/CJN.11440919>.

Li, J., Wang, L., Wan, L., Lin, T., Zhao, W., Cui, H., Li, H., Cao, L., Wu, J. and Zhang, T. (2019). Mutational spectrum and novel candidate genes in Chinese children with sporadic steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatric Research*, 85(6), pp.816–821. doi:<https://doi.org/10.1038/s41390-019-0321-z>.

Lin, F.-J., Yao, L., Hu, X.-Q., Bian, F., Ji, G., Jiang, G.-R., Gale, D.P. and Ren, H.-Q. (2019). First identification of *PODXL* nonsense mutations in autosomal dominant focal segmental glomerulosclerosis. *Clinical Science*, 133(1), pp.9–21. doi:<https://doi.org/10.1042/cs20180676>.

Lipska, B.S., Ranchin, B., Iatropoulos, P., Gellermann, J., Melk, A., Ozaltin, F., Caridi, G., Seeman, T., Tory, K., Jankauskiene, A., Zurowska, A., Kumar, S., Wasilewska, A., Harambat, J., Trautmann, A., Peco-Antic, A., Borzecka, H., Moczulska, A., Saeed, B. and Bogdanovic, R. (2014). Genotype–phenotype associations in WT1 glomerulopathy. *Kidney International*, 85(5), pp.1169–1178. doi:<https://doi.org/10.1038/ki.2013.519>.

Liu, G., Kaw, B., Kurfis, J., Rahmanuddin, S., Kanwar, Y.S. and Chugh, S.S. (2003). Neph1 and nephrin interaction in the slit diaphragm is an important determinant of glomerular permeability. *The Journal of Clinical Investigation*, [online] 112(2), pp.209–221. doi:<https://doi.org/10.1172/JCI18242>.

Liu, P.-J., Gunther, L., Garone, M., Zhang, C., Perez, D., Bi-Karchin, J., Pellenz, C., Chase, S., Presti, M., Plante, E., Martin, C., Lovric, S., Yengo, C., Hildebrandt, F. and Krendel, M. (2022). Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome—Associated MYO1E Mutations Have Differential Effects on Myosin 1e Localization, Dynamics, and Activity. *Journal of The American Society of Nephrology*, 33(11), pp.1989–2007. doi:<https://doi.org/10.1681/asn.2021111505>.

Liu, Y.-X., Zhang, A.-Q., Luo, F.-M., Sheng, Y., Wang, C.-Y., Dong, Y., Fan, L. and Liu, L. (2021). Case Report: A Novel Heterozygous Mutation of CD2AP in a Chinese Family With Proteinuria Leads to Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Frontiers in Pediatrics*, 9. doi:<https://doi.org/10.3389/fped.2021.687455>.

Löwik, M.M., Groenen, P.J., Levtchenko, E.N., Monnens, L.A. and van den Heuvel, L.P. (2009). Molecular genetic analysis of podocyte genes in focal segmental glomerulosclerosis—a review. *European Journal of Pediatrics*, 168(11), pp.1291–1304. doi:<https://doi.org/10.1007/s00431-009-1017-x>.

Löwik, M.M., Groenen, P.J., Pronk, I., Lilien, M.R., Goldschmeding, R., Dijkman, H.B., Levtchenko, E.N., Monnens, L.A. and van den Heuvel, L.P. (2007). Focal segmental glomerulosclerosis in a patient homozygous for a CD2AP mutation. *Kidney International*, 72(10), pp.1198–1203. doi:<https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002469>.

Mele, C., Iatropoulos, P., Donadelli, R., Calabria, A., Maranta, R., Cassis, P., Buelli, S., Tomasoni, S., Piras, R., Krendel, M., Bettoni, S., Morigi, M., Delledonne, M., Pecoraro, C., Abbate, I., Capobianchi, M.R., Hildebrandt, F., Otto, E., Schaefer, F. and Macciardi, F. (2011). MYO1E Mutations and Childhood Familial Focal Segmental Glomerulosclerosis. *New England Journal of Medicine*, 365(4), pp.295–306. doi:<https://doi.org/10.1056/nejmoa1101273>.

Meyrier, A. (2015). Nephrosclerosis: A Term in Quest of a Disease. *Nephron*, 129(4), pp.276–282. doi:<https://doi.org/10.1159/000381195>.

Miner, J.H. (2011). Glomerular basement membrane composition and the filtration barrier. *Pediatric Nephrology*, 26(9), pp.1413–1417. doi:<https://doi.org/10.1007/s00467-011-1785-1>.

Naudin, C., Smith, B., Bond, D.R., Dun, M.D., Scott, R.J., Ashman, L.K., Weidenhofer, J. and Roselli, S. (2017). Characterization of the early molecular changes in the glomeruli of Cd151 $-/-$ mice highlights induction of mindin and MMP-10. *Scientific Reports*, [online] 7(1), p.15987. doi:<https://doi.org/10.1038/s41598-017-15993-3>.

Ning, L., Suleiman, H.Y. and Miner, J.H. (2021). Synaptopodin deficiency exacerbates kidney disease in a mouse model of Alport syndrome. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 321(1), pp.F12–F25. doi:<https://doi.org/10.1152/ajprenal.00035.2021>.

Obeidat, M., Obeidat, M. and Ballermann, B.J. (2012). Glomerular endothelium: A porous sieve and formidable barrier. *Experimental Cell Research*, 318(9), pp.964–972. doi:<https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2012.02.032>.

Okamoto, K., Honda, K., Doi, K., Ishizu, T., Katagiri, D., Wada, T., Tomita, K., Ohtake, T., Kaneko, T., Kobayashi, S., Nangaku, M., Tokunaga, K. and Noiri, E. (2015). Glypican-5 Increases Susceptibility to Nephrotic Damage in Diabetic Kidney. *American Journal of Pathology*, 185(7), pp.1889–1898. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.03.025>.

Orlando, R.A., Takeda, T., Zak, B., Schmieder, S., Benoit, V.M., Mcquistan, T., Furthmayr, H. and Farquhar, M.G. (2001). The Glomerular Epithelial Cell Anti-Adhesin Podocalyxin Associates with the Actin Cytoskeleton through Interactions with Ezrin. *Journal of The American Society of Nephrology*, 12(8), pp.1589–1598. doi:<https://doi.org/10.1681/asn.v1281589>.

Ozaltin, F., Ibsirlioglu, T., Taskiran, E.Z., Baydar, D., Kaymaz, F., Büyükçelik, M., Kilic, B.D., Balat, A., Iatropoulos, P., Asan, E., Akarsu, N.A., Schaefer, F., Yilmaz, E. and Bakkaloglu, A. (2011). Disruption of PTPRO Causes Childhood-Onset Nephrotic Syndrome. *The American Journal of Human Genetics*, 89(1), pp.139–147. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.05.026>.

Ozaltin, F., Li, B., Rauhauser, A., An, S.W., Soylemezoglu, O., Gonul, I.I., Taskiran, E.Z., Ibsirlioglu, T., Korkmaz, E., Bilginer, Y., Duzova, A., Ozen, S., Topaloglu, R., Besbas, N., Ashraf, S., Du, Y., Liang, C., Chen, P., Lu, D. and Vadnagara, K. (2013). DGKE Variants Cause a Glomerular Microangiopathy That Mimics Membranoproliferative GN. *Journal of The American Society of Nephrology*, 24(3), pp.377–384. doi:<https://doi.org/10.1681/asn.2012090903>.

Patrakka, J. and Tryggvason, K. (2007). Nephrin – a unique structural and signaling protein of the kidney filter. *Trends in Molecular Medicine*, 13(9), pp.396–403. doi:<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2007.06.006>.

Patrakka, J. and Tryggvason, K. (2010). Molecular make-up of the glomerular filtration barrier. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, [online] 396(1), pp.164–169. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.04.069>.

Pavenstädt, H., Kriz, W. and Kretzler, M. (2003). Cell Biology of the Glomerular Podocyte. *Physiological Reviews*, 83(1), pp.253–307. doi:<https://doi.org/10.1152/physrev.00020.2002>.

Pecci, A., Klersy, C., Gresele, P., Lee, K.J.D., De Rocco, D., Bozzi, V., Russo, G., Heller, P.G., Loffredo, G., Ballmaier, M., Fabris, F., Beggiato, E., Kahr, W.H.A., Pujol-Moix, N., Platokouki, H., Van Geet, C., Noris, P., Yerram, P., Hermans, C. and Gerber, B. (2014). MYH9-Related Disease: A Novel Prognostic Model to Predict the Clinical Evolution of the Disease Based on Genotype-Phenotype Correlations. *Human Mutation*, 35(2), pp.236–247. doi:<https://doi.org/10.1002/humu.22476>.

Peng, M., Falk, M.J., Haase, V.H., King, R., Polyák, E., Selak, M., Yudkoff, M., Hancock, W.W., Meade, R., Saiki, R., Lunceford, A., Clarke, C.F. and Gasser, D.L. (2008). Primary Coenzyme Q Deficiency in Pdss2 Mutant Mice Causes Isolated Renal Disease. *PLOS Genetics*, 4(4), pp.e1000061–e1000061. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000061>.

Pritchard-Jones, K., Fleming, S., Davidson, D., Bickmore, W., Porteous, D., Gosden, C., Bard, J., Buckler, A., Pelletier, J., Housman, D., van Heyningen, V. and Hastie, N. (1990). The candidate Wilms' tumour gene is involved in genitourinary development. *Nature*, 346(6280), pp.194–197. doi:<https://doi.org/10.1038/346194a0>.

Putaala, H., Soininen, R., Kilpeläinen, P., Wartiovaara, J. and Tryggvason, K. (2001). The murine nephrin gene is specifically expressed in kidney, brain and pancreas: inactivation of the gene leads to massive proteinuria and neonatal death. *Human Molecular Genetics*, 10(1), pp.1–8. doi:<https://doi.org/10.1093/hmg/10.1.1>.

Reiser, J., Polu, K.R., Möller, C.C., Kenlan, P., Altintas, M.M., Wei, C., Faul, C., Herbert, S., Villegas, I., Avila-Casado, C., McGee, M., Sugimoto, H., Brown, D., Kalluri, R., Mundel, P., Smith, P., Clapham, D.E. and Pollak, M.R. (2005). TRPC6 is a glomerular slit diaphragm-associated channel required for normal renal function. *Nature Genetics*, 37(7), pp.739–744. doi:<https://doi.org/10.1038/ng1592>.

Retterer, K., Juusola, J., Cho, M.T., Vitazka, P., Millan, F., Gibellini, F., Vertino-Bell, A., Smaoui, N., Neidich, J., Monaghan, K.G., McKnight, D., Bai, R., Suchy, S., Friedman, B., Tahiliani, J., Pineda-Alvarez, D., Richard, G., Brandt, T., Haverfield, E. and Chung, W.K. (2016). Clinical application of whole-exome sequencing across clinical indications. *Genetics in Medicine*, [online] 18(7), pp.696–704. doi:<https://doi.org/10.1038/gim.2015.148>.

Roselli, S., Heidet, L., Sich, M., Henger, A., Kretzler, M., Gubler, M.-C. and Antignac, C. (2004). Early Glomerular Filtration Defect and Severe Renal Disease in Podocin-Deficient Mice. *Molecular and Cellular Biology*, 24(2), pp.550–560. doi:<https://doi.org/10.1128/mcb.24.2.550-560.2004>.

Sadowski, C.E., Lovric, S., Ashraf, S., Pabst, W.L., Gee, H.Y., Kohl, S., Engelmann, S., Vega-Warner, V., Fang, H., Halbritter, J., Somers, M.J., Tan, W., Shril, S., Fessi, I., Lifton, R.P., Bockenhauer, D., El-Desoky, S., Kari, J.A., Zenker, M. and Kemper, M.J. (2015). A single-gene cause in 29.5% of cases of steroid-resistant nephrotic syndrome. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, [online] 26(6), pp.1279–1289. doi:<https://doi.org/10.1681/ASN.2014050489>.

Salem, R.M., Todd, J.N., Sandholm, N., Cole, J.B., Chen, W.-M., Andrews, D., Pezzolesi, M.G., McKeigue, P.M., Hiraki, L.T., Qiu, C., Nair, V., Di Liao, C., Cao, J.J., Valo, E., Onengut-Gumuscu, S., Smiles, A.M., McGurnaghan, S.J., Haukka, J.K., Harjutsalo, V. and Brennan, E.P. (2019). Genome-Wide Association Study of Diabetic Kidney Disease Highlights Biology Involved in Glomerular Basement Membrane Collagen. *Journal of the American Society of Nephrology*, [online] 30(10), pp.2000–2016. doi:<https://doi.org/10.1681/asn.2019030218>.

Sato, Y., Tsukaguchi, H., Morita, H., Higasa, K., Tran, M.T.N., Hamada, M., Usui, T., Morito, N., Horita, S., Hayashi, T., Takagi, J., Yamaguchi, I., Nguyen, H.T., Harada, M., Inui, K., Maruta, Y., Inoue, Y., Koiwa, F., Sato, H. and Matsuda, F. (2018). A mutation in transcription factor MAFB causes Focal Segmental Glomerulosclerosis with Duane Retraction Syndrome. *Kidney International*, [online] 94(2), pp.396–407. doi:<https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.02.025>.

- Scalais, E., Chafai, R., Van Coster, R., Bindl, L., Nuttin, C., Panagiotaraki, C., Seneca, S., Lissens, W., Ribes, A., Geers, C., Smet, J. and De Meirleir, L. (2013). Early myoclonic epilepsy, hypertrophic cardiomyopathy and subsequently a nephrotic syndrome in a patient with CoQ10 deficiency caused by mutations in para-hydroxybenzoate-polyprenyl transferase (COQ2). *European Journal of Paediatric Neurology: EJPN: Official Journal of the European Paediatric Neurology Society*, [online] 17(6), pp.625–630. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2013.05.013>.
- Schlöndorff, J., del Camino, D., Carrasquillo, R., Lacey, V.K. and Pollak, M.R. (2009). TRPC6 mutations associated with focal segmental glomerulosclerosis cause constitutive activation of NFAT-dependent transcription. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 296(3), pp.C558–C569. doi:<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00077.2008>.
- Sekine, T., Konno, M., Sasaki, S., Moritani, S., Miura, T., Wong, W.Y., Nishio, H., Nishiguchi, T., Ohuchi, M., Tsuchiya, S., Matsuyama, T., Kanegane, H., Ida, K., Miura, K., Harita, Y., Hattori, M., Horita, S., Igarashi, T., Saito, H. and Kunishima, S. (2010). Patients with Epstein–Fechtner syndromes owing to MYH9 R702 mutations develop progressive proteinuric renal disease. *Kidney International*, 78(2), pp.207–214. doi:<https://doi.org/10.1038/ki.2010.21>.
- Sellin, L., Huber, T.B., Gerke, P., Quack, I., Pavenstädt, H. and Walz, G. (2003). NEPH1 defines a novel family of podocin-interacting proteins. *The FASEB Journal*, 17(1), pp.115–117. doi:<https://doi.org/10.1096/fj.02-0242fje>.
- Shih, N.-Y., Li, J., Cotran, R., Mundel, P., Miner, J.H. and Shaw, A.S. (2001). CD2AP Localizes to the Slit Diaphragm and Binds to Nephlin via a Novel C-Terminal Domain. *The American Journal of Pathology*, 159(6), pp.2303–2308. doi:[https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)63080-5](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)63080-5).
- Siemens, T.A., Riella, M.C., Moraes, T.P. de and Riella, C.V. (2018). APOL1 risk variants and kidney disease: what we know so far. *Brazilian Journal of Nephrology*, 40(4), pp.388–402. doi:<https://doi.org/10.1590/2175-8239-jbn-2017-0033>.
- Solanki, A.K., Widmeier, E., Arif, E., Sharma, S., Daga, A., Srivastava, P.K., Kwon, S.O., Hugo, H., Nakayama, M., Mann, N., Majmundar, A.J., Tan, W., Gee, H.Y., Sadowski, C.E., Rinat, C., Becker-Cohen, R., Bergmann, C., Rosen, S., Somers, M.J. and Shril, S. (2019). Mutations in KIRREL1, a slit diaphragm component, cause steroid-resistant nephrotic syndrome. *Kidney International*, 96(4), pp.883–889. doi:<https://doi.org/10.1016/j.kint.2019.06.016>.
- Starr, M.C., Chang, I.J., Finn, L.S., Sun, A., Larson, A.A., Goebel, J., Hanevold, C., Thies, J., Van Hove, J.L.K., Hingorani, S.R. and Lam, C. (2018). COQ2 nephropathy: a treatable cause of nephrotic syndrome in children. *Pediatric Nephrology*, 33(7), pp.1257–1261. doi:<https://doi.org/10.1007/s00467-018-3937-z>.
- Steichen, C., Hervé, J.C., Hauet, T. and Bourmeyster, N. (2022). Rho GTPases in kidney physiology and diseases. *Small GTPases*, 13(1), pp.1–21. doi:<https://doi.org/10.1080/21541248.2021.1932402>.

- Sweeney, E., Fryer, A., Mountford, R., Green, A. and McIntosh, I. (2003). Nail patella syndrome: a review of the phenotype aided by developmental biology. *Journal of Medical Genetics*, [online] 40(3), pp.153–162. doi:<https://doi.org/10.1136/jmg.40.3.153>.
- Tabibzadeh, N., Fleury, D., Labatut, D., Bridoux, F., Lionet, A., Jourde-Chiche, N., Vrtovsnik, F., Schlegel, N. and Vanhille, P. (2018). MYH9-related disorders display heterogeneous kidney involvement and outcome. *Clinical Kidney Journal*, [online] 12(4), pp.494–502. doi:<https://doi.org/10.1093/ckj/sfy117>.
- Takeda, T., McQuistan, T., Orlando, R.A. and Farquhar, M.G. (2001). Loss of glomerular foot processes is associated with uncoupling of podocalyxin from the actin cytoskeleton. *The Journal of Clinical Investigation*, 108(2), pp.289–301. doi:<https://doi.org/10.1172/jci12539>.
- Tao, Q.-Q., Chen, Y.-C. and Wu, Z.-Y. (2019). The role of CD2AP in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Aging and disease*, 10(4), p.901. doi:<https://doi.org/10.14336/ad.2018.1025>.
- Torres, M., Gomez-Pardo, E., Dressler, G.R. and Gruss, P. (1995). Pax-2 controls multiple steps of urogenital development. *Development*, 121(12), pp.4057–4065. doi:<https://doi.org/10.1242/dev.121.12.4057>.
- Tory, K., Menyhárd, D.K., Woerner, S., Nevo, F., Gribouval, O., Kerti, A., Stráner, P., Arrondel, C., Cong, E.H., Tulassay, T., Mollet, G., Perczel, A. and Antignac, C. (2014). Mutation-dependent recessive inheritance of NPHS2-associated steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nature Genetics*, 46(3), pp.299–304. doi:<https://doi.org/10.1038/ng.2898>.
- Trautmann, A., Bodria, M., Ozaltin, F., Gheisari, A., Melk, A., Azocar, M., Anarat, A., Caliskan, S., Emma, F., Gellermann, J., Oh, J., Baskin, E., Ksiazek, J., Remuzzi, G., Erdogan, O., Akman, S., Dusek, J., Davitaia, T., Özkaya, O. and Papachristou, F. (2015). Spectrum of Steroid-Resistant and Congenital Nephrotic Syndrome in Children: The PodoNet Registry Cohort. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 10(4), pp.592–600. doi:<https://doi.org/10.2215/cjn.06260614>.
- Tryggvason, K., Patrakka, J. and Wartiovaara, J. (2006). Hereditary Proteinuria Syndromes and Mechanisms of Proteinuria. *New England Journal of Medicine*, 354(13), pp.1387–1401. doi:<https://doi.org/10.1056/nejmra052131>.
- Verma, R., Kovari, I., Soofi, A., Nihalani, D., Patrie, K. and Holzman, L. (2006). Nephrin ectodomain engagement results in Src kinase activation, nephrin phosphorylation, Nck recruitment, and actin polymerization. *Journal of Clinical Investigation*, 116(5), pp.1346–1359. doi:<https://doi.org/10.1172/jci27414>.
- Vivante, A., Chacham, O.S., Shril, S., Schreiber, R., Mane, S.M., Pode-Shakked, B., Soliman, N.A., Koneth, I., Schiffer, M., Anikster, Y. and Hildebrandt, F. (2019). Dominant PAX2 mutations may cause steroid-resistant nephrotic syndrome and FSGS in children. *Pediatric Nephrology*, [online] 34(9), pp.1607–1613. doi:<https://doi.org/10.1007/s00467-019-04256-0>.

WareJoncas, Z., Campbell, J.M., Martínez-Gálvez, G., Gendron, W.A.C., Barry, M.A., Harris, P.C., Sussman, C.R. and Ekker, S.C. (2018). Precision gene editing technology and applications in nephrology. *Nature Reviews Nephrology*, [online] 14(11), pp.663–677. doi:<https://doi.org/10.1038/s41581-018-0047-x>.

Weber, S., Gribouval, O., Esquivel, E.L., Morinière, V., Tête, M.J., Legendre, C., Niaudet, P. and Antignac, C. (2004). NPHS2 mutation analysis shows genetic heterogeneity of steroid-resistant nephrotic syndrome and low post-transplant recurrence. *Kidney International*, 66(2), pp.571–579. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2004.00776.x>.

Weins, A., Kenlan, P., Herbert, S., Le, T.C., Villegas, I., Kaplan, B.S., Appel, G.B. and Pollak, M.R. (2005). Mutational and Biological Analysis of α -Actinin-4 in Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Journal of The American Society of Nephrology*, 16(12), pp.3694–3701. doi:<https://doi.org/10.1681/asn.2005070706>.

Winn, M.P., Colon, P.J., Lynn, K.L., Farrington, M.K., Creazzo, T., Hawkins, A.F., Daskalakis, N., Kwan, S.Y., Ebersviller, S., Burchette, J.L., Pericac-Vance, M.A., Howell, D.N., Vance, J.M. and Rosenberg, P.M. (2005). A Mutation in the TRPC6 Cation Channel Causes Familial Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Science*, 308(5729), pp.1801–1804. doi:<https://doi.org/10.1126/science.1106215>.

Yao, T., Udwan, K., John, R., Rana, A., Haghighi, A., Xu, L., Hack, S., Reich, H.N., Hladunewich, M.A., Cattran, D.C., Paterson, A.D., Pei, Y. and Barua, M. (2019). Integration of Genetic Testing and Pathology for the Diagnosis of Adults with FSGS. *Clinical Journal of The American Society of Nephrology*, 14(2), pp.213–223. doi:<https://doi.org/10.2215/cjn.08750718>.

Yarmolinsky, M. and Hoess, R. (2015). The Legacy of Nat Sternberg: The Genesis of Cre-lox Technology. *Annual Review of Virology*, [online] 2(1), pp.25–40. doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-virology-100114-054930>.

Yu, H., Kistler, A.D., Faridi, M.H., Meyer, J.H., Trynieszewska, B., Mehta, D., Yue, L., Dryer, S.E. and Reiser, J. (2016). Synaptopodin Limits TRPC6 Podocyte Surface Expression and Attenuates Proteinuria. *Journal of the American Society of Nephrology*, 27(11), pp.3308–3319. doi:<https://doi.org/10.1681/asn.2015080896>.

Yu, S., Choi, W.-I., Choi, Y.J., Kim, H.-Y., Hildebrandt, F. and Gee, H.Y. (2020). PLCE1 regulates the migration, proliferation, and differentiation of podocytes. *Experimental & Molecular Medicine*, 52(4), pp.594–603. doi:<https://doi.org/10.1038/s12276-020-0410-4>.