

Irena Bałasz-Chmielewska

Katedra i Klinika Pediatrii, Nefrologii i Nadciśnienia, Gdański Uniwersytet Medyczny

# Steroidooporny zespół nerczycowy u dzieci — patogeneza, diagnostyka i leczenie

## Steroid-resistant nephrotic syndrome in children — pathogenesis, diagnosis and treatment

### ABSTRACT

Steroid-resistant nephrotic syndrome constitutes a challenge for pediatric nephrologists. Due to the limited efficacy of treatment it appears as one of the main causes of end stage renal disease in childhood. Treatment consists of high doses of corticosteroids in combination with intensive immunosuppression leading to remission only in a proportion of patients. Many others do not respond due to the underlying structural or functional

defects of glomerular filtration membrane caused by specific mutations in responsible genes. Mutations of several genes involved in pathogenesis of the disease have been identified. Genetic tests should be introduced as routine clinical practice to identify children with known mutations to avoid unnecessary further immunosuppressive treatment.

Forum Nefrologiczne 2014, vol 7, no 4, 215–223

**Key words:** steroid-resistant nephrotic syndrome, mutations, FSGS, circulating factor

### WSTĘP

Zespół nerczycowy (ZN) jest jedną z podstawowych manifestacji klinicznych kłębuszkowych zapaleń nerek u dzieci. Roczna zapadalność szacowana jest na 2–7/100 000 dzieci w wieku poniżej 15. roku życia [1]. U ponad 80% chorych podłożem ZN są zmiany minimalne. Większość dzieci z tym rozpoznaniem reaguje na leczenie kortykosteroidami stosowanymi w dawce 60 mg/m<sup>2</sup>/dobę, uzyskując remisję objawów klinicznych przeciętnie w drugim tygodniu terapii. Zjawisko steroidooporności, czyli braku odpowiedzi na wstępne leczenie kortykosteroidami, dotyczy około 10–20% tej populacji i stanowi poważny problem zarówno diagnostyczny, jak i terapeutyczny. Wiąże się bowiem z wysokim, około 40–50% ryzykiem utraty funkcji nerek w ciągu 10 lat [2, 3]. W obrazie histopatologicznym

w tej grupie chorych najczęściej stwierdza się ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków (FSGS, *focal segmental glomerulosclerosis*), mezangialne rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek (MesGN, *mesangio-proliferative glomerulonephritis*), rozlane stwardnienie mezangium (DMS, *diffuse mesangial sclerosis*) lub tak zwane zmiany minimalne (MCD, *minimal change disease*). Steroidooporny ZN stanowi niejednorodną patogenetycznie grupę obejmującą zarówno schorzenia o podłożu immunologicznym, jak i coraz lepiej poznawane schorzenia uwarunkowane genetycznie. Dotychczas poznane przyczyny genetyczne steroidoopornego ZN to głównie mutacje w genach odpowiedzialnych za syntezę białek tworzących błonę filtracyjną kłębuszków nerkowych. Udział czynników genetycznych w patogenezie ZN zmienia się wraz z wiekiem. Najczęściej, prawie w 100% przypadków są one przyczyną

**Adres do korespondencji:**  
lek. Irena Bałasz-Chmielewska  
Katedra i Klinika Pediatrii,  
Nefrologii i Nadciśnienia,  
Gdański Uniwersytet Medyczny  
ul. Dębinki 7, 80–211 Gdańsk  
tel.: 58 349 28 50; faks: 58 349 28 52  
e-mail: ibalasz@gumed.edu.pl

wrodzonego ZN, występującego w pierwszych 3 miesiącach życia. W późniejszym wieku niemowlęcom ich udział sięga 57%, a u dzieci powyżej roku są przyczyną około 1/4 przypadków [4]. Natomiast u większości dzieci powyżej pierwszego roku życia podłoże choroby pozostaje niewyjaśnione. Uważa się, że w pewnym odsetku choroba może być spowodowana niewykrytymi jeszcze czynnikami genetycznymi, w pozostałych zaś przypadkach — nie do końca poznanymi zaburzeniami immunologicznymi. W praktyce klinicznej narzędzia diagnostyczne stosowane do różnicowania przyczyn steroidoopornego ZN u dzieci to tradycyjna biopsja nerki oraz coraz bardziej dostępne badania genetyczne. W artykule tym omówiono najczęstsze przyczyny oraz możliwości rozpoznawania i leczenia steroidoopornego ZN u dzieci ze szczególnym uwzględnieniem podłoża genetycznego.

## MUTACJE GENETYCZNE W PATOGENEZIE STERIDOOPORNEGO ZESPOŁU NERCZYCOWEGO

### MUTACJE GENU *NPHS2*

Mutacje genu *NPHS2* stanowią najczęstsze wrodzone podłoże zarówno rodzinne, jak i sporadycznie występującego ZN u dzieci [5, 6]. Mogą też stanowić przyczynę steroidoopornego ZN występującego u dorosłych. Gen *NPHS2* jest zlokalizowany na chromosomie 1q25 i składa się z 8 eksonów. Koduje podocynę — integralne białko błonowe, zlokalizowane w wyrostkach stopowatych podocytów, łączące się z cytoplazmatyczną domeną nefryny oraz białkami CD2AP i Neph1. Podocyna łączy nefrynę z cytoszkieletem podocyta, odgrywając ważną rolę w utrzymaniu właściwej struktury i funkcji bariery filtracyjnej [7]. Mutacje genu *NPHS2* po raz pierwszy opisano w 2000 roku u dzieci z rodzinnie występującym autosomalnie recesywnym ZN [7]. Obecnie uważa się, że są one odpowiedzialne za około 40% rodzinnych i 10% sporadycznych przypadków steroidoopornego ZN [6]. Na typowy obraz kliniczny składa się ZN stwierdzany często już w pierwszym roku życia, nieodpowiadający na leczenie kortykosteroidami i lekami immunosupresyjnymi i prowadzący do niewydolności nerek. W obrazie histopatologicznym można stwierdzić zmiany o charakterze FSGS, MCD lub MesGN. Zidentyfikowano liczne mutacje tego genu. Niektóre z nich powiązано z pewnymi cechami klinicznymi

u chorych. Mutacje powodujące duże zmiany w strukturze czy funkcji kodowanego białka wiążą się z wczesnym wystąpieniem i ciężkim przebiegiem klinicznym. Jedną z częstszych mutacji stwierdzanych w europejskiej populacji dziecięcej jest mutacja p.R138Q typu zmiany sensu (*missense*) powodująca, że podocyna pozostaje w retikulum endoplazmatycznym i traci zdolność do właściwego połączenia z nefryną [8]. Mutacja ta powoduje stosunkowo wczesne wystąpienie ZN, poniżej 6. roku życia, często w pierwszych tygodniach, a nawet pierwszych dniach życia [6, 9]. Inne mutacje, takie jak p.V180M, a zwłaszcza współistnienie mutacji z polimorfizmem p.R229Q, mogą powodować wystąpienie steroidoopornego ZN w późniejszym okresie życia i łagodniejszy przebieg choroby [6, 10, 11]. Polimorfizm p.R229Q występuje z częstością około 3–4% w populacji europejskiej. W badaniach *in vitro* wykazano, że zmniejsza on wiązanie nefryny z podocyną [11]. W badaniach, przeprowadzonych w ramach międzynarodowego rejestru PodoNet, obejmujących populację 227 pacjentów z ZN rozpoznanym w drugiej dekadzie życia, stwierdzono, że u 7% badanych przyczyną choroby były mutacje genu *NPHS2*; u ponad połowy z nich mutacja występowała w wariantie heterozygotycznym z polimorfizmem p.R229Q [12]. W latach 2010–2013 w Gdańsku przeprowadzono diagnostykę w kierunku mutacji genu *NPHS2* w populacji 141 dzieci polskich ze steroidoopornym ZN. Mutacje genu kodującego podocynę stwierdzono u 20 dzieci (14% badanej populacji). U 11 pacjentów stwierdzono obecność mutacji c.1032delT występującej w wariantie heterozygotycznym z nieobojętnym polimorfizmem p.R229Q. Prawie wszyscy pacjenci z wymienioną mutacją pochodzili z regionu Kaszub, co sugeruje efekt założyciela. Częstość polimorfizmu p.R229Q w populacji kaszubskiej oszacowano na 6,5%, prawie 2-krotnie wyższą w stosunku do obserwowanej w większości populacji europejskich [13]. U pozostałych pacjentów pochodzących z różnych regionów kraju stwierdzono inne, w większości już wcześniej opisane mutacje. Wyniki tych badań podkreślają konieczność diagnostyki w kierunku mutacji genu *NPHS2* w polskiej populacji dzieci ze steroidoopornym ZN.

### MUTACJE GENU *NPHS1*

Kolejnym genem o istotnym znaczeniu w patogenezie ZN jest gen *NPHS1* zlokalizowany na chromosomie 19q13, zawierający

►► Mutacje genu *NPHS2* stanowią najczęstsze wrodzone podłoże zarówno rodzinne, jak i sporadycznie występującego ZN u dzieci ◀◀

29 eksonów, kodujący nefrynę [14]. Nefryna jest jednym z głównych białek tworzących błony szczelinowe łączące wypustki stopowate podocytów. Należy do transbłonowych białek sygnałowych przekazujących informacje z zewnątrz do wnętrza komórki. Jej główną funkcją jest kształtowanie szkieletu błon szczelinowych. Defekt tego białka powoduje zmianę przepuszczalności bariery filtracyjnej i masywny białkomocz. Mutacje genu *NPHS1* są przyczyną dziedzicznego autosomalnie recesywnie wrodzonego ZN o dużej częstości występowania w populacji fińskiej, dlatego też zwanego ZN „typu fińskiego”. Pierwotnie opisano dwie mutacje Fin-major (L41fsX90) i Fin-minor (R1109X) występujące głównie w Finlandii. Obydwie te mutacje są mutacjami punktowymi typu nonsense. Powodują przedwczesne zatrzymanie transkrypcji i powstanie skróconego białka, a w efekcie — brak ekspresji nefryny na błonie komórkowej podocytów i zanik błony szczelinowej [15]. Na obraz kliniczny składają się wcześniactwo, duże łożysko, białkomocz rozwijający się już w okresie życia płodowego i ciężki, pełnoobjawowy ZN stwierdzany wkrótce po urodzeniu, oporny na leczenie i prowadzący w krótkim czasie do niewydolności nerek. W obrazie histopatologicznym można stwierdzić charakterystyczne poszerzenie kanalików nerkowych lub zmiany o typie MCD lub FSGS. Mutacje te dominują w populacji fińskiej, jednak zarówno w Finlandii, jak i poza jej granicami stwierdzono występowanie innych różnego typu mutacji (zmiany sensu, delecji, inercji), które nie powodują całkowitego braku ekspresji nefryny i mogą się ujawnić klinicznie również w późniejszym wieku, powyżej 3. miesiąca życia, mieć nieco łagodniejszy przebieg kliniczny z częściową odpowiedzią na leczenie i późniejszym wystąpieniem schyłkowej niewydolności nerek [15, 16].

### MUTACJE GENU *WT1*

Gen *WT1*, zwany genem supresorowym guza Wilmsa, jest zlokalizowany na chromosomie 11p13 i składa się z 10 eksonów. Koduje jądrowy czynnik transkrypcyjny regulujący ekspresję innych genów. Kontroluje rozwój układu moczowo-płciowego, w tym rozwój i dojrzewanie kłębuszków nerkowych i gonad [17]. W patogenezie zespołu nerczycowego istotne znaczenie mają mutacje występujące w obrębie eksonów 8. i 9., które powodują wystąpienie izolowanego steroidoopornego ZN lub ZN współistniejącego z zaburzeniami różnicowania płci i/lub guzem Wilmsa. Udział mutacji

genu *WT1* w patogenezie steroidoopornego ZN szacuje się na około 6% [18, 19]. Mutacje w eksonie 8. i 9., najczęściej typu zmiany sensu, są przyczyną izolowanego ZN lub zespołu Denys-Drash charakteryzującego się wczesnym wystąpieniem ZN, obecnością dysgenезji gonad, pseudohermafrodytyzmu typu męskiego i wysokim ryzykiem rozwoju guza Wilmsa. Typowym obrazem histopatologicznym jest rozlane stwardnienie mezangium (DMS). Glomerulopatia ujawnia się we wczesnym dzieciństwie i charakteryzuje szybkim postępowaniem do schyłkowej niewydolności nerek. Natomiast mutacje w intronie 9 typu *splice site* są przyczyną zespołu Frasier, w którego skład wchodzi: przewlekła glomerulopatia, męski pseudohermafrodytyzm i dysplazja gonad. Z zespołem tym wiąże się ryzyko rozwoju *gonadoblastoma*. W biopsji nerki stwierdza się FSGS. Zespół nerczycowy rozwija się w późniejszym okresie życia i prowadzi do niewydolności nerek w drugiej lub trzeciej dekadzie życia. Poszukiwanie mutacji genu *WT1* jako podłoża steroidoopornego ZN jest szczególnie ważne ze względu na możliwość współwystępowania nowotworów i dotyczy całego okresu rozwojowego.

### MUTACJE GENU *PLCE1* (*NPHS3*)

Gen ten znajduje się na chromosomie 10q23-q24 i koduje enzym — fosfolipazę C epsilon-1, biorący udział w wewnątrzkomórkowym przekazywaniu sygnałów, w regulacji wzrostu i różnicowania komórek. Enzym ten występuje w wielu tkankach, między innymi w cytoplazmie podocytów [20]. Mutacje genu *PLCE1*, dziedziczone autosomalnie recesywnie (AR), stanowią podłoże około 30% przypadków DMS u dzieci [21], manifestującego się klinicznie ZN rozpoznawanym najczęściej już w pierwszym roku życia, nieodpowiadającym na leczenie i prowadzącym w krótkim czasie do schyłkowej niewydolności nerek. Stwierdzono też pojedyncze przypadki mutacji tego genu u pacjentów z FSGS, u których wcześniej wykluczono mutacje genu *NPHS2*. Na uwagę zasługuje fakt, że u 2 dzieci opisano pozytywną odpowiedź na leczenie kortykosteroidami i cyklosporyną A [21], co może uzasadniać podejmowanie prób terapii immunosupresyjnej, konieczne są jednak dalsze badania i obserwacje.

### INNE POZNANE MUTACJE GENOWE

Zidentyfikowano ponad 20 genów mających znaczenie w patogenezie steroidoopornego ZN występującego w postaci izolowa-

►► Mutacje genu *NPHS1* są przyczyną dziedzicznego autosomalnie recesywnie wrodzonego ZN o dużej częstości występowania w populacji fińskiej, dlatego też zwanego ZN „typu fińskiego” ◀◀

►► Poszukiwanie mutacji genu *WT1* jako podłoża steroidoopornego ZN jest szczególnie ważne ze względu na możliwość współwystępowania nowotworów i dotyczy całego okresu rozwojowego ◀◀

**Tabela 1.** Genetyczne przyczyny steroidoopornego zespołu nerczycowego (ZN)

Gen	Produkt genu/białko	Postać kliniczna/histopatologiczna	Sposób dziedziczenia
<b>NPHS1</b> 19q13.1	Nefryna	Wrodzony ZN /torbielowate poszerzenie kanalików nerkowych i postępujące stwardnienie mezangium Steroidooporny ZN/MesGN, MCD, FSGS	AR AR
<b>NPHS2</b> 1q25-q31	Podocyna	Wrodzony ZN/FSGS Steroidooporny ZN/FSGS, MesGN, MCD	AR AR
<b>NPHS3</b> 10q23q24	PLCe1	Steroidooporny ZN/DMS Steroidooporny ZN/FSGS	AR AR
<b>WT1</b> 11p13	WT1	Izolowany steroidooporny ZN/DMS, FSGS	AD
<b>CD2AP</b> 6p12.3	CD2AP	Steroidooporny ZN/FSGS	AD/AR
<b>TRPC6</b> 11q21-q22	TRPC6	Steroidooporny ZN/FSGS	AD
<b>INF2</b> 14q32	<i>Inverted formin 2</i>	Steroidooporny ZN/FSGS	AD
<b>ACTN4</b> 19q13	Alfa-aktynina 4	Steroidooporny ZN/FSGS	AD
<b>ARHGAP24</b> 4q20	Arhgap24	Steroidooporny ZN/FSGS	AD
Myo1E	<i>Non-muscle class I myosin 1e</i>	Steroidooporny ZN/FSGS	AR
<b>MYH9</b> 22q12	NMMHC-A	Predysponuje do rozwoju FSGS	
<b>ADCK4</b> 19q13.1	ADCK4	Steroidooporny ZN/ <i>collapsing</i> FSGS	AR
<b>COQ2</b>	<i>Para-hydroxybenzoate-polyprenyl-transferase enzyme of the CoQ(10) synthesis pathway</i>	Steroidooporny ZN/ <i>collapsing</i> FSGS	AR
<b>PTPRO</b> 12p	GLEPP1	Steroidooporny ZN/FSGS	AR

MCD (*minimal change disease*) — zmiany minimalne; MesGN (*mesangioproliferative glomerulonephritis*) — mezangialno-proliferacyjne kłębuszkowe zapalenie nerek; FSGS (*focal segmental glomerulosclerosis*) — ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych; DMS (*diffuse mesangial sclerosis*) — rozlane stwardnienie mezangium; AR — dziedziczenie autosomalne recesywne; AD — dziedziczenie autosomalne dominujące

nej (tab. 1) bądź współistniejącej z innymi patologiami w postaci określonych zespołów genetycznych (tab. 2). Niektóre z genów, takie jak: *ACTN4*, *INF2* i *TRPC6*, są odpowiedzialne za niewielki odsetek steroidoopornego ZN u dzieci. Częściej stanowią podłoże białkomoczu lub ZN występującego w drugiej dekadzie życia i u osób dorosłych. Typowym obrazem histopatologicznym dla tych mutacji jest FSGS. Charakteryzują się autosomalnie dominującym typem dziedziczenia. We wspomnianych już aktualnie prowadzonych badaniach w ramach międzynarodowego rejestru PodoNet w wyselekcjonowanej populacji dzieci stwierdzono 2 przypadki mutacji genu *INF2*. Nie stwierdzono dotychczas mutacji w genach *ACTN4* i *TRCP6* [12].

## **NABYTE (NIEGENETYCZNE) PODŁOŻE ZESPOŁU NERCZYCOWEGO**

Osiągnięcia biologii molekularnej pozwoliły na poznanie struktury błony filtracyjnej, a zwłaszcza podocytów i ustalenie ich bardzo ważnej roli w procesie filtracji kłębuszkowej i patogenezie steroidoopornego ZN. Oprócz poznanych mutacji, istotną rolę w patogenezie idiopatycznego ZN przypisuje się czynnikom immunologicznym. Jedną z podstawowych hipotez powstania ZN w przebiegu FSGS jest obecność w osoczu chorych tak zwanych „krążących czynników” zwiększających przepuszczalność bariery filtracyjnej. Dowodem na ich udział są: obserwacje kliniczne nawrotu białkomoczu po transplantacji nerki i pozytywny efekt leczenia metodą wymiany osocza czy immunoadsorpcji

**Tabela 2.** Steroidooporny zespół nerczycowy (ZN) będący składową złożonego genetycznego zespołu chorobowego

Nazwa zespołu	Objawy nerkowe/pozanerkowe	Gen	Produkt genu/białko	Sposób dziedziczenia
Denys-Drash	DMS/steroidooporny ZN Pseudohermafrodytyzm męski Guz Wilmsa	<b>WT1</b> 11p13 Ex 8 i 9	WT1	AD
Frasier	FSGS/steroidooporny ZN Pseudohermafrodytyzm męski Dysgeneza gonad Skłonność do rozwoju gonadoblastoma	<b>WT1</b> 11p13 Intron 9	WT1	AD
Pierson	DMS/wrodzony ZN <i>Microcoria</i> , nieprawidłowy kształt soczewki, zaćma, ślepotą, ciężkie objawy neurologiczne, hipotonia mięśni Sporadycznie FSGS i łagodniejszy fenotyp	<b>LAMB2</b> 3p21	Beta 2 laminina	AR
Schimke dysplazja immunokostna	FSGS/steroidooporny ZN Niski wzrost, dysmorfia twarzy, dysplazja przynasad kostnych, limfopenia, zmiany barw- nikowe na skórze, epizody niedokrwienne CUN, niedoczynność tarczycy	<b>SMARCA1</b> 2q34-q36	Białko regulatorowe biorące udział w re- modelowaniu DNA	AR
Galloway-Mowat	DMS, FSGS/wrodzony ZN, steroidooporny ZN Małogłowie, anomalie CUN, upośledzenie umy- słowe, dysmorfia twarzy, przepuklina rozworu przelykowego przepony	?	?	AR
Nail-Patella paznokciowo- -rzepkowy	Białkomocz/steroidooporny ZN w 30–50% przypadków Hipoplazja, dystrofia lub brak paznokci, hipo- plazja lub brak rzepek kolana, dysplazja stawów łokciowych, jaskra	<b>LMX1B</b> 9q34.1	Lmx1b	AD
Cytopatie mitochon- drialne: MELAS	FSGS/białkomocz, steroidooporny ZN Mitochondrialna miopatiwa, encefalopatia, kwa- sica mleczanowa, epizody podobne do udarów	<b>MTTL1</b>	t-RNA-LEU	AR, matczyzny
Leigh/niedobór CoQ10	FSGS/steroidooporny ZN drgawki, hipotonia, ślepotą	<b>PDSS2</b>	Syntaza prenyl difosforanowa COQ6	
Zespół nerczycowy z głuchotą nerwowo- -czuciową	FSGS, steroidooporny ZN, głuchotą, drgawki, cechy dysmorficzne twarzy	<b>COO6</b>		

CUN — centralny układ nerwowy; FSGS (*focal segmental glomerulosclerosis*) — ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych; DMS (*diffuse mesangial sclerosis*) — rozlane stwardnienie mezangium; AR — dziedziczenie autosomalne recesywne; AD — dziedziczenie autosomalne dominujące

oraz możliwość przeniesienia białkomoczu od matki z FSGS do płodu. W badaniach eksperymentalnych wykazano, że surowica chorego podana zwierzętom doświadczalnym wywołuje u nich białkomocz. Jednym z potencjalnych czynników zwiększających przepuszczalność błony filtracyjnej jest czynnik przepuszczalności naczyń (VPF, *vascular permeability factor*), cytokina wydzielana przez limfocyty T. Badano ponadto hemopeksynę, białko produkowane przez wątrobę, krążącą proteazę, która po aktywacji

powodowała białkomocz oraz *cardiotrophin-like cytokine factor 1* (CLC-1) [22]. W ostatnich latach w osoczu pacjentów z nawrotem FSGS po transplantacji nerki stwierdzono rozpuszczalny receptor dla urokinazy (su-PAR, *soluble urokinase-type plasminogen-activator receptor*) [23]. Podwyższone stężenie su-PAR stwierdzono u 55% dzieci i 84% dorosłych z potwierdzonym biopsyjnie pierwotnym FSGS w porównaniu z niskim odsetkiem wynoszącym 6% w grupie kontrolnej. Ponadto obserwowano obniżenie jego

▶▶ W Polsce w Laboratorium Genetyki Klinicznej w Gdańsku są wykonywane badania w zakresie genu *NPHS2* oraz 8. i 9. eksonu genu *WT1*. Są one dostępne jako badania diagnostyczne finansowane przez NFZ ◀◀

poziomu pod wpływem leczenia z równoczesnym zmniejszeniem nasilenia białkomoczu [24]. W badaniach eksperymentalnych wykazano, że krążący su-PAR poprzez aktywację beta-3 integryny w podocytach powoduje albuminurię i podobną do FSGS glomerulopatię. Konieczne są dalsze badania w celu potwierdzenia przydatności klinicznej oznaczania tego czynnika. Być może w przyszłości będzie mógł być wykorzystywany w celach diagnostycznych.

### DIAGNOSTYKA W STEROIDOPORNYM ZESPOLE NERCZYCOWYM

Diagnostyka steroidoopornego ZN aktualnie opiera się na biopsji nerki i badaniach genetycznych. Wynik biopsji pozwala na rozpoznanie rzadkich u dzieci postaci kłębuszkowego zapalenia nerek typu błoniastego lub błonistorozplemowego i ustalenie właściwego dalszego postępowania terapeutycznego. W niektórych przypadkach biopsja może ukierunkować dalszą diagnostykę genetyczną. Obecność rozlanego szklwienia mezangium (DMS) wskazuje na prawdopodobieństwo mutacji w genach *WT1*, *PLCE1* oraz na występowanie zespołu Denys-Drash, Pierson czy Galloway-Mowat. Stwierdzenie obecności mikrocyst i poszerzenia kanalików nerkowych sugeruje mutację genu *NPHS1*. Jednak dla większości chorych, u których wykazano zmiany o typie FSGS, MesGN czy MCD, wynik biopsji nie rozstrzyga o patogenezie choroby i nie wyklucza podłoża genetycznego, dlatego konieczna jest jednoczesna diagnostyka genetyczna. Badania w zakresie genów *NPHS2* i *WT1* powinny być wykonane u wszystkich dzieci z ZN w przypadku stwierdzonej pierwotnej steroidooporności definiowanej jako brak remisji ZN po 8 tygodniach steroidoterapii lub oporności na kortykosteroidy i wstępne leczenie immunosupresyjne. Prawdopodobieństwo podłoża genetycznego wzrasta u dzieci z wrodzonym ZN, ZN stwierdzonym w pierwszym roku życia i dodatnim wywiadem rodzinnym. Obecnie diagnostyka genetyczna opiera się na sekwencjonowaniu pojedynczych genów. Jest to proces stosunkowo kosztowny i czasochłonny, ograniczający łatwą dostępność do badań. W związku z tym do klinicysty należy ustalenie kolejności wykonywanych badań genetycznych. Zalecany zakres i kolejność badań genetycznych w zależności od wieku przedstawiono w tabeli 3. W niedalekiej przyszłości najpewniej będą dostępne nowe techniki diagnostyki genetycznej,

takie jak sekwencjonowanie — *next generation sequencing* (NGS), umożliwiające jednoczasowe zbadanie wszystkich genów związanych z patogenezą zespołu nerczycowego, co wpłynie na szybkość i precyzję diagnostyki. W Polsce w Laboratorium Genetyki Klinicznej w Gdańsku są wykonywane badania w zakresie genu *NPHS2* oraz 8. i 9. eksonu genu *WT1*. Są one dostępne jako badania diagnostyczne finansowane przez NFZ. Ze względu na różnorodność występujących w populacji dzieci polskich mutacji genu *NPHS2* zaleca się badanie obejmujące wszystkie eksony tego genu. W populacji kaszubskiej, dla której typowe jest występowanie mutacji c.1032delT i polimorfizmu p.R229Q, zaleca się rozpoczęcie badania od eksonów 5. i 8. [13].

### LECZENIE STEROIDOPORNEGO ZESPOŁU NERCZYCOWEGO

Według zaleceń *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KDIGO) z 2012 roku [25] steroidooporność w populacji dziecięcej należy rozpoznawać po 8 tygodniach nieskutecznego leczenia kortykosteroidami. Dalsza terapia obejmuje leczenie immunosupresyjne i nieimmunosupresyjne, mające na celu zmniejszenie białkomoczu. Spośród leków immunosupresyjnych zalecane są inhibitory kalcyneuryny w połączeniu z niskimi dawkami kortykosteroidów. Długość leczenia nie jest ściśle określona i zależy od efektu klinicznego. Uzyskanie całkowitej lub częściowej remisji uzasadnia kontynuację leczenia przez co najmniej 12 miesięcy, natomiast brak efektu po 6 miesiącach leczenia jest wskazaniem do zaprzestania leczenia lub podjęcia próby zastosowania mykofenolanu mofetylu (MMF), wysokich dawek kortykosteroidów, ewentualnie kombinacji tych leków. W wynikach dotychczasowych badań wskazuje się na mniejszą skuteczność MMF w stosunku do inhibitorów kalcyneuryny. Leki alkilujące (np. cyklofosfamid) nie są obecnie zalecane ze względu na ich małą skuteczność. Nie zaleca się również stosowania rytuksymabu ze względu na zbyt małą ilość danych świadczących o jego skuteczności. W leczeniu objawowym, zmniejszającym nasilenie białkomoczu, zalecane są leki z grupy inhibitorów enzymu konwertującego angiotensynę (ACE, *angiotensin converting enzyme*) lub antagonistów receptora angiotensyny II (ARB, *angiotensin receptor blockers*).

**Tabela 3.** Zalecana diagnostyka genetyczna w zależności od wieku i rozpoznania histopatologicznego

Wiek	Obraz histopatologiczny	Geny
0–3 miesiące	Promieniste poszerzenie kanalików proksymalnych	<i>NPHS1</i>
	MCD/MesGN/FSGS	<i>NPHS2, NPHS1, PLCE1</i>
	DMS	<i>WT1, LAMB2, PLCE1</i>
4–12 miesięcy	MCD/MesGN/FSGS	<i>NPHS2, NPHS1, WT1, PLCE1</i>
	DMS	<i>WT1, PLCE1</i>
Okres dziecięcy	MCD/MesGN/FSGS	<i>NPHS2, NPHS1, WT1, PLCE1</i>
	DMS	<i>WT1, PLCE1</i>
Młodzież i dorośli	FSGS	AR i sporadyczne <i>p.R229Q, NPHS2, CD2AP, NPHS1</i>
		AD — <i>INF2, ACTN4, TRPC6</i>

MCD (*minimal change disease*) — zmiany minimalne; MesGN (*mesangiol proliferative glomerulonephritis*) — mezangialno-proliferacyjne kłębuszkowe zapalenie nerek; FSGS (*focal segmental glomerulosclerosis*) — ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych; DMS (*diffuse mesangial sclerosis*) — rozlane stwardnienie mezangium; AR — dziedziczenie autosomalne recesywne; AD — dziedziczenie autosomalne dominujące

### GENETYCZNIE UWARUNKOWANY ZESPÓŁ NERCZYCOWY A LECZENIE IMMUNOSUPRESYJNE

Dotychczasowe badania i obserwacje kliniczne wskazują na brak lub niewielką skuteczność leczenia immunosupresyjnego w genetycznie uwarunkowanych przypadkach steroidoopornego ZN, szczególnie będących wynikiem mutacji genów: *NPHS2, NPHS1, WT1, LAMB2, TRPC6*. Nie zaleca się więc stosowania steroidów i leków immunosupresyjnych po stwierdzeniu genetycznego podłoża ZN. W jednym z badań zaobserwowano jedynie częściową remisję ZN u 2 dzieci (17%) z potwierdzonym podłożem genetycznym ZN, w obydwu przypadkach uwarunkowanym mutacjami genu *WT1*, podczas gdy w podgrupie bez stwierdzonej mutacji odsetek — w większości całkowitych — remisji wynosił 68% [26]. W piśmiennictwie można spotkać pojedyncze doniesienia o pozytywnym wpływie leczenia steroidami i/lub cyklosporyną A (CsA) u pacjentów z mutacjami w genach *WT1, NPHS1* (*non Finish type*) i *PLCE1*. Są to wprawdzie kazuistyczne doniesienia, niemniej jednak zachęcają one do podejmowania prób leczenia, głównie CsA, w wybranych przypadkach uwarunkowanego genetycznie ZN. Cyklosporyna A, oprócz immunosupresyjnego działania, ma wpływ na cytoszkielet podocytów i prawdopodobnie w wyniku tego mechanizmu może wpływać na zmniejszenie białkomoczu, przyczyniając się do uzyskania częściowej remisji ZN [27]. Nie zaleca się stosowania kortykosteroidów i MMF ani przedłużania terapii inhibitorami kalcyneuryny, jeśli nie powodują one istot-

nego zmniejszenia białkomoczu. Należy też zwrócić uwagę na fakt, że w leczeniu pacjentów ze steroidoopornym ZN równocześnie z CsA są stosowane inne leki zmniejszające białkomocz, takie jak inhibitory ACE lub ARB, co utrudnia ocenę efektów leczenia immunosupresyjnego. Warto więc włączać leczenie sukcesywnie, oceniając wpływ poszczególnych leków, zwłaszcza inhibitorów kalcyneuryny, na wielkość białkomoczu.

### ODLEGŁE ROKOWANIE W STERIDOOPORNYM ZESPOLU NERCZYCOWYM

Konsekwencją utrzymującego się przewlekłego białkomoczu o dużym nasileniu, niepoddającego się leczeniu, jest zwiększone ryzyko wystąpienia powikłań ZN oraz przewlekłe uszkodzenie nerek prowadzące do ich niewydolności. Według danych Polskiego Rejestru Dzieci Leczonych Nerkozastępczo w 15% przypadków przyczyną schyłkowej niewydolności nerek było FSGS lub wrodzony ZN [28]. Leczeniem z wyboru jest przeszczepienie nerki. Problem stanowi możliwość nawrotu choroby w nerce przeszczepionej. W przypadkach FSGS ryzyko nawrotu zespołu nerczykowego wynosi około 30–50%. Jest to najprawdopodobniej skutkiem obecności w osoczu chorego tak zwanego „krążącego czynnika” uszkadzającego błonę filtracyjną, co negatywnie wpływa na długość przeżycia przeszczepu. W genetycznie uwarunkowanym ZN ryzyko nawrotu białkomoczu jest znacznie mniejsze — ma to znaczenie przy kwalifikacji do przeszczepu nerki od żywego dawcy. Ryzyko to wynosi około 25% u dzieci z mutacją Fin major genu *NPHS1* i jest związane z pojawieniem się

▶▶ Dotychczasowe badania i obserwacje kliniczne wskazują na brak lub niewielką skuteczność leczenia immunosupresyjnego w genetycznie uwarunkowanych przypadkach steroidoopornego ZN ◀◀

▶▶ Cyklosporyna A, oprócz immunosupresyjnego działania, ma wpływ na cytoszkielet podocytów i prawdopodobnie w wyniku tego mechanizmu może wpływać na zmniejszenie białkomoczu, przyczyniając się do uzyskania częściowej remisji ZN ◀◀

przeciwciał przeciwko nefrynie obecnej w przeszczepionej nerce [29]. W przypadkach steroidoopornego ZN uwarunkowanego mutacjami genu *NPHS2* ryzyko nawrotu białkomoczu po transplantacji nerki jest rzadkim zjawiskiem, nie przekracza 10% [6, 30], przyczyna zaś nie została do końca wyjaśniona. Nie wykryto dotychczas przeciwciał przeciwko podocynie. Rozważa się możliwość oddziaływania czynników immunologicznych, takich jak obecność w surowicy biorcy „krążącego czynnika” oraz czynników genetycznych związanych z dawcą nerki. Opisano pojedyncze przypadki nawrotu białkomoczu po przeszczepieniu biorcy z homozygotyczną lub złożoną heterozygotyczną mutacją genu *NPHS2* nerki od żywego dawcy-rodzica będącego nosicielem heterozygotycznej mutacji tego genu. Należy brać pod uwagę takie ryzyko przy kwalifikacji do przeszczepienia rodzinnego [30].

### ZNACZENIE DIAGNOSTYKI GENETYCZNEJ

Diagnostyka genetyczna jest coraz bardziej dostępna i powinna być wykorzystywana w praktyce klinicznej. Wykonana na odpowiednio wczesnym etapie choroby wpływa na przebieg leczenia, może bowiem stanowić podstawę do całkowitej rezygnacji lub przynaj-

mniej znacznego ograniczenia leczenia immunosupresyjnego, zmniejszając ryzyko wystąpienia działań niepożądanych oraz koszty terapii. Stwierdzenie niektórych mutacji, na przykład mutacji genu *WT1*, skłania do poszukiwania zaburzeń różnicowania płci i wnikliwej diagnostyki w związku ze zwiększonym ryzykiem występowania nowotworów. Diagnostyka genetyczna pozwala również na określenie ryzyka nawrotu ZN w nerce przeszczepionej oraz umożliwia udzielenie porady genetycznej choremu i jego rodzinie w przypadku zidentyfikowania podłoża genetycznego choroby.

### PODSUMOWANIE

Steroidooporny ZN jest niejednorodną patogenetycznie jednostką chorobową uwarunkowaną czynnikami genetycznymi lub immunologicznymi. Badania ostatnich lat pozwoliły na poznanie struktury i funkcji podocytów oraz w wielu przypadkach na wyodrębnienie przyczyny genetycznej choroby. Prowadzone są intensywne badania nad poznaniem innych czynników i mechanizmów uszkadzających błonę filtracyjną kłębuszków nerkowych dające nadzieję na lepsze zrozumienie tego schorzenia i ustalenie optymalnego leczenia w zależności od podłoża choroby.

### STRESZCZENIE

Steroidooporny zespół nerczycowy jest niezwykle istotnym problemem w nefrologii dziecięcej. Ze względu na ograniczone możliwości skutecznego leczenia stanowi jedną z głównych przyczyn schyłkowej niewydolności nerek. Leczenie chorych ze schorzeniem immunologicznym polega na intensyfikacji leczenia immunosupresyjnego, które jest skuteczne jedynie w nie-

których przypadkach. Większość chorych z zespołem nerczycowym o podłożu genetycznym nie odpowiada na leczenie. Ich wyodrębnienie na podstawie dobrze zaplanowanych, coraz łatwiej dostępnych badań genetycznych jest konieczne przed decyzją o dalszym długotrwałym leczeniu immunosupresyjnym.

Forum Nefrologiczne 2014, tom 7, nr 4, 215–223

**Słowa kluczowe:** steroidooporny zespół nerczycowy, mutacje, FSGS, krążący czynnik

### Piśmiennictwo

1. Eddy A.A., Symons J.M. Nephrotic syndrome in childhood. *Lancet* 2003; 362: 629–639.
2. Mekahli D., Liutkus A., Ranchin B. i wsp. Long-term outcome of idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome: a multicenter study. *Pediatr. Nephrol.* 2009; 24: 1525–1532.
3. Zagury A., Oliveira A.L., Montalvão J.A. i wsp. Steroid-resistant idiopathic nephrotic syndrome in children: long-term follow-up and risk factors for end-stage renal disease. *J. Bras. Nefrol.* 2013; 35: 191–199.
4. Santin S., Bullich G., Tazon-Vega B. i wsp. Clinical utility of genetic testing in children and adults with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2011; 6: 1139–1148.
5. Hinkes B.G., Mucha B., Vlangos C.N. i wsp. Nephrotic syndrome in the first year of life: two thirds of cases are caused by mutations in 4 genes (*NPHS1*, *NPHS2*, *WT1*, and *LAMB2*). *Pediatrics* 2007; 119: e907–e919.
6. Weber S., Gribouval O., Esquivel E.L. i wsp. *NPHS2* mutation analysis shows genetic heterogeneity of steroid-resistant nephrotic syndrome and low post-transplant recurrence. *Kidney Int.* 2004; 66: 571–579.
7. Boute N., Gribouval O., Roselli S., i wsp. *NPHS2*, encoding the glomerular protein, podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat. Genet.* 2000; 24: 349–354.



8. Huber T.B., Simons M., Hartleben B. i wsp. Molecular basis of the functional podocin-nephrin complex: mutations in the NPHS2 gene disrupt nephrin targeting to lipid raft microdomains. *Hum. Mol. Genet.* 2003; 12: 3397–3405.
9. Hinkes B., Vlangos B., Heeringa S. i wsp. Specific podocin mutations correlate with age of onset in steroid-resistant nephrotic syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2008; 19: 365–371.
10. Machuca E., Hummel A., Nevo F. i wsp. Clinical and epidemiological assessment of steroid-resistant nephrotic syndrome associated with the NPHS2 R229Q variant. *Kidney Int.* 2009; 75: 727–735.
11. Tsukaguchi H., Sudhakar A., Le T.C. i wsp. NPHS2 mutations in late-onset focal, segmental glomerulosclerosis: R229Q is a common disease-associated allele. *J. Clin. Invest.* 2002; 110: 1659–1666.
12. Lipska B.S., Paraskevas I., Maranta R. i wsp. Genetic screening in adolescents with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 2013; 84: 206–213.
13. Lipska B.S., Bałasz-Chmielewska I., Morzuch L. i wsp. Mutational analysis in podocin-associated hereditary nephrotic syndrome in Polish patients: founder effect in the Kashubian population. *J. Appl. Genetics.* 2013; 54: 327–333.
14. Kestilä M., Lenkkeri U., Mannikko M. i wsp. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein-nephrin-is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol. Cell.* 1998; 1: 575–582.
15. Patrakka J., Kestilä M., Wartiovaara J. i wsp. Congenital nephrotic syndrome (NPHS1): Features resulting from different mutations in Finnish patients. *Kidney Int.* 2000; 58: 972–980.
16. Philippe A., Nevo F., Esquivel E.L., i wsp. Nephrin mutations can cause childhood-onset steroid-resistant nephrotic syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2008; 19: 1871–1878.
17. Morrison A.A., Viney R.L., Saleem M.A., Ladomery M.R. New insights into the function of the Wilms tumor suppressor gene WT1 in podocytes. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2008; 295: F12–17.
18. Mucha B., Ozaltin F., Hinkes B.G. i wsp. Mutations in the tumor 1 gene cause isolated steroid resistant nephrotic syndrome and occur in exons 8 and 9. *Pediatr. Res.* 2006; 59: 325–331.
19. Lipska B.S., Ranchin B., Iatropoulos P. i wsp. Genotype-phenotype associations in WT1 glomerulopathy. *Kidney Int.* 2014; 8 [Epub ahead of print].
20. Hinkes B., Wiggins R.C., Gbadegesin R. i wsp. Positional cloning uncovers mutations in PLCE1 responsible for a nephrotic syndrome variant that may be reversible. *Nat. Genet.* 2006; 38: 1397–1405.
21. Gbadegesin R., Hinkes B.G., Hoskins B.E. i wsp. Mutations in PLCE1 are a major cause of isolated diffuse mesangial sclerosis (IDMS). *Nephrol. Dial. Transplant.* 2008; 23: 1291–1297.
22. McCarthy E.T., Sharma M., Savin V.J. Circulating permeability factors in idiopathic nephrotic syndrome and focal segmental glomerulosclerosis. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2010; 5: 2115–2121.
23. Wei C., Hindi E.I., Fornoni A. i wsp. Circulating urokinase receptor as a cause of focal segmental glomerulosclerosis. *Nat. Med.* 2011; 17: 952–960.
24. Wei C., Trachtman H., Li J. i wsp. Circulating suPAR in two cohorts of primary FSGS. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2012; 23: 2051–2059.
25. Lombel R.M., Hodson E.M., Gipson D.S. Treatment of steroid-resistant nephrotic syndrome in children: new guidelines from KDIGO. *Pediatr. Nephrol.* 2013; 28: 409–414.
26. Büscher A.K., Kranz B., Büscher K. i wsp. Immunosuppression and renal outcome in congenital and pediatric steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2010; 5: 2075–2084.
27. Faul Ch., Donnelly M., Merscher-Gomez S. i wsp. The actin cytoskeleton of kidney podocytes is a direct target of the antiproteinuric effect of cyclosporine A. *Nat. Med.* 2008; 14: 931–938.
28. Zagożdżon I., Bałasz-Chmielewska I., Żurowska A. i wsp. Glomerulopatie jako przyczyna schyłkowej niewydolności nerek u dzieci — dane na podstawie Polskiego Rejestru Dzieci Leczonych Nerkozastępczo (2000–2007). *Przegl. Pediatr.* 2012; 42: 51–54.
29. Patrakka J., Ruotsalainen V., Reponen P. i wsp. Recurrence of nephrotic syndrome in kidney grafts of patients with congenital nephrotic syndrome of the finish type: role of nephrin. *Transplantation* 2002; 73: 394–403.
30. Benoit G., Machuca E., Antignac C. Hereditary nephrotic syndrome: a systematic approach for genetic testing and a review of associated podocyte gene mutations. *Pediatr. Nephrol.* 2010; 25: 1621–1632.