

Μελέτες Ευρείας Γονιδιωματικής Συσχέτισης και Χρόνια Νεφρική Νόσος: «κατασκευάζοντας» εκ νέου την χρόνια νεφρική νόσο

A. Φούντογλου¹
K. Δέλτας²
A. Σιώμου³
E. Ντουνούση¹

¹ Νεφρολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή Ιωαννίνων, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων
² School of Medicine and biobank.cy Center of Excellence in Biobanking and Biomedical Research, University of Cyprus, Nicosia, Cyprus
³ Παιδιατρική Κλινική, Ιατρική Σχολή Ιωαννίνων, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Περίληψη

Η Χρόνια Νεφρική Νόσος (XNN) αποτελεί ένα μείζον πρόβλημα δημόσιας υγείας με αυξανόμενο επιδημιολογικό φορτίο, συνιστώντας την 16^η αιτία «χαμένων» ετών ζωής. Παρόλα αυτά η επίγνωση της νόσου παραμένει χαμηλή, η κλινική προσπέλαση εμφανίζει πολλά προβληματικά σημεία ενώ και οι θεραπευτικές επιλογές είναι περιορισμένες. Ένα από τα κύρια προβλήματα που συντηρούν αυτές τις διαγνωστικές και θεραπευτικές ατέλειες είναι και το γεγονός πως η XNN εξακολουθεί να αποτελεί μια κλινική οντότητα με σημαντική αιτιολογική ασάφεια. Εκτός από τον σακχαρώδη διαβήτη και την αρτηριακή υπέρταση που θεωρούνται ως οι κύριες αιτίες χρόνιας νεφροπάθειας υπάρχουν ακόμα πολλές «γκρίζες ζώνες» στο διαγνωστικό πλαίσιο της XNN. Η γενετική αποτελεί τα τελευταία χρόνια ένα πολλά υποσχόμενο πεδίο στον τομέα της νεφρολογίας. Ο ρόλος των γενετικών παραγόντων τόσο στην αιτιοπαθογένεια όσο και στην προδιάθεση εμφάνισης XNN είναι πλέον καλά τεκμηριωμένος και εκατοντάδες γενετικές παραλλαγές στο επίπεδο του DNA των γονιδίων αναγνωρίζονται ως υπεύθυνες για το μεγάλο επιδημιολογικό φορτίο της XNN. Η Αλληλούχιση Νέας Γενιάς αναδεικνύει συνεχώς γνωστά και άγνωστα γονίδια που προκαλούν Μενδελικές μορφές χρόνιας νεφροπάθειας ενώ οι Μελέτες Ευρείας Γονιδιωματικής Συσχέτισης (ΜΕΓΣ) αναδεικνύουν εκατοντάδες συχνές (αλλά και σπάνιες) γενετικές παραλλαγές που σχετίζονται με φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της XNN στον γενικό πληθυσμό. Στο παρόν άρθρο θα επιχειρηθεί μια ανασκόπηση των ΜΕΓΣ που έφεραν επανάσταση –και συνεχίζουν να φέρνουν επανάσταση– στην αιτιολογική αποσαφήνιση της XNN καθώς και των συχνών παραλλαγών γονιδίων με άγνωστη μέχρι τώρα νεφρική σημασία που επεκτείνουν την αιτιοπαθογενετική κατανόηση της νόσου, αναδεικνύοντας καινούριους μηχανισμούς βλάβης.

Λέξεις κλειδιά: Χρόνια Νεφρική Νόσος, Μελέτες Ευρείας Γονιδιωματικής Συσχέτισης, Γενετικά Νοσήματα Νεφρού, Γενετικές παραλλαγές

Εισαγωγή

Η Χρόνια Νεφρική Νόσος (XNN) αποτελεί παγκόσμιο πρόβλημα δημόσιας υγείας με σημαντική επίπτωση στους δείκτες νο-

σηρότητας και θνησιμότητας καθώς και με μεγάλη επιβάρυνση των δαπανών της υγείας για τη φροντίδα και την περίθαλψη των ασθενών με Χρόνια Νεφρική Νόσο Τελικού Σταδίου (ΧΝΝΤΣ), που υποβάλλονται σε κάποια μέθοδο υποκατάστασης της νεφρικής λειτουργίας. Εκτιμάται ότι >10% του ενήλικου πληθυσμού εμφανίζει μια μορφή χρόνιας νεφροπάθειας, με την επίπτωση της νόσου να αυξάνεται διαρκώς, ακολουθώντας την αυξητική τάση που εμφανίζουν οι μειζονες παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΧΝΝ όπως ο σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ), η αρτηριακή υπέρταση (ΑΥ) και η παχυσαρκία.

Σε μια προσπάθεια αναβάθμισης της φροντίδας αυτών των ασθενών οι ομάδες εργασίας του National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF-K/DOQI) και του Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) συστηματοποίησαν τον ορισμό της χρόνιας νεφροπάθειας, προκειμένου να βελτιώσουν την επικοινωνία μεταξύ των επιστημόνων και κυρίως να επιτρέψουν τον πρώιμο εντοπισμό αυτών των ασθενών. Σύμφωνα λοιπόν με τον ορισμό που διατυπώθηκε από την ομάδα K/DOQI, «η ΧΝΝ ορίζεται ως η παρουσία νεφρικής βλάβης ή η ελάττωση του Ρυθμού Σπειραματικής Διήθησης (ΡΣΔ, GFR) <60 ml/min/1,73 m² για διάστημα 3 μηνών ή και περισσότερο, ανεξαρτήτως αιτιολογίας» εισάγοντας ουσιαστικά δυο βασικές έννοιες: αυτήν του ΡΣΔ ως βασικού δείκτη εκτίμησης της νεφρικής λειτουργίας και αυτήν της νεφρικής βλάβης στην οποία περιλαμβάνονται διαταραχές στον εργαστηριακό ή τον απεικονιστικό έλεγχο. Η προσθήκη της «αιτιολογίας» από την ομάδα KDIGO ως μιας από τις 3 βασικές συνιστώσες της ΧΝΝ (αιτιολογία, ΡΣΔ, αλβουμινουρία) εμπλούτισε ακόμα περισσότερο την έννοια της νόσου, επεμβαίνοντας στο κρίσιμο πεδίο της ορθής διάγνωσης και της στοχευμένης θεραπείας, το οποίο ακόμα και σήμερα, δυστυχώς, κυριαρχείται από αρκετές «γκρίζες ζώνες», όπως οι «εύκολες διαγνώσεις» της διαβητικής και της υπερτασικής νεφροπάθειας οι οποίες πολλές φορές καταλήγουν στο να αποτελούν τις «λανθασμένες διαγνώσεις» της ΧΝΝ, οι «εύκολες ιστολογικές διαγνώσεις», όπως αυτή της εστιακής τμηματικής σπειραματοσκλήρυνσης (ΕΤΣΣ) που καταλήγουν τελικά στο να ομαδοποιούν διαγνωστικά στην ίδια κατηγορία χρόνιες νεφροπάθειες με τελείως διαφορετική αιτιοπαθογενετική αφετηρία καθώς και ο υψηλός επιπολασμός της εξίσου «εύκολης

διάγνωσης» της «χρόνιας νεφρικής νόσου άγνωστης αιτιολογίας» που αποτελεί τρόπον τινά την αποτυχία της νεφρολογικής ειδικότητας να αναγνωρίσει την πραγματική αιτία της ΧΝΝ και να ξεκαθαρίσει το τοπίο της ετερόκλητης αυτής κλινικής οντότητας.

Τα τελευταία χρόνια η έλευση των σύγχρονων μεθόδων γενετικής ανάλυσης επέτρεψε την αποσαφήνιση μέρους των σκοτεινών αυτών σημείων, αναδεικνύοντας τις γενετικές μορφές ως μιας σημαντικής, αν και υποεκτιμημένης αιτίας ΧΝΝ. Στην παρούσα ανασκόπηση θα αναφερθούμε στις δυο μείζονες κατηγορίες γενετικών νοσημάτων του νεφρού, δηλαδή τις μονογονιδιακές/Μενδελικές και τις πολυγονιδιακές, και θα επικεντρωθούμε στην γενετική προδιάθεση της ΧΝΝ και στο πώς αυτή αρχίζει να οριοθετείται μέσα από τις Μελέτες Ευρείας Γονιδιωματικής Συσχέτισης (Genome-Wide Associations Studies/GWAS).

1. Η γενετική αρχιτεκτονική της Χρόνιας Νεφρικής Νόσου

Η συστηματική γενετική διερεύνηση της ΧΝΝ και η αποκάλυψη σπάνιων μονογονιδιακών νοσημάτων καθώς και γενετικών παραγόντων που σχετίζονται με αυτήν αποτελούν σχετικά πρόσφατες εξελίξεις στον χώρο της Νεφρολογίας. Τη γενετική χαρτογράφηση της αυτοσωμικής επικρατούσας πολυκυστικής νεφροπάθειας τη δεκαετία του 1980, ακολούθησε το 1990 η πρώτη ταυτοποίηση παθογενετικής μετάλλαξης για μονογονιδιακή νεφρική νόσο (σύνδρομο Alport), ενώ στη συνέχεια δεκάδες ερευνητικές μελέτες ταυτοποίησαν μια πληθώρα παθογόνων παραλλαγών σε γονίδια που κωδικοποιούν μια σειρά νεφρικών πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένων υποδοχέων, διαύλων ιόντων, μεταφορέων, ενζύμων, μεταγραφικών παραγόντων και δομικών συστατικών των κυττάρων και του εξωκυττάρου χώρου, πολλές από τις οποίες εκφράζονται και σε άλλα όργανα, αποκαλύπτοντας σύνθετους κλινικούς φαινότυπους. Από την άλλη πλευρά, παρά τη μεγάλη πρόοδο που έχει συντελεστεί στο πεδίο των μονογονιδιακών αυτών νοσημάτων, η συνεισφορά τους στα υψηλά επιδημιολογικά μεγέθη της ΧΝΝ παραμένει μικρή αναδεικνύοντας τη σημασία και άλλων γενετικών παραγόντων που φαίνεται να συνδέονται με την αυξημένη επίπτωση της ΧΝΝ στον γενικό πληθυσμό.

Τη βασική ώθηση στη γενετική έρευνα έδωσαν επιδημιολογικές μελέτες οι οποίες αποκάλυψαν

υψηλά ποσοστά θετικού οικογενειακού ιστορικού νεφροπάθειας σε ασθενείς με ΧΝΝ (10-30%)^{1,2,3} καθώς και σημαντική εμφάνιση πολλαπλών περιπτώσεων νεφρικής νόσου μεταξύ των μελών των ίδιων οικογενειών (familial aggregation), ακόμα και μετά τη στάθμιση για παράγοντες κινδύνου όπως ο ΣΔ και η ΑΥ⁴ ενώ παρόμοιες μελέτες κατέδειξαν πολύ υψηλά ποσοστά κληρονομησιμότητας του ΡΣΔ (36-75%) και σε μικρότερο βαθμό της λευκωματινουρίας (16-49%)^{5,6}, ευρήματα τα οποία συνηγορούσαν υπέρ ενός πιθανού γενετικού υποστρώματος.

Επιπρόσθετα, κοινή ήταν η παρατήρηση μεταξύ των κλινικών ιατρών και των ερευνητών πως, η ΧΝΝ εξελισσόταν με διαφορετικό τρόπο στις διάφορες κατηγορίες ασθενών, όπως αυτοί με ΣΔ και ΑΥ και πως ασθενείς με ίδιους αιτιολογικούς παράγοντες νόσου καθώς και παρόμοια ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και του διαβήτη, εμφάνιζαν μεγάλη μεταβλητότητα στην εξέλιξη και τη σοβαρότητα της νεφρικής βλάβης⁷. Είναι εξάλλου γνωστό πως ένα μικρό μόνο κλάσμα των ασθενών με ΣΔ και ΑΥ καταλήγει τελικά να αναπτύξει σοβαρή νεφρική νόσο, με τους κλινικούς παράγοντες να μην μπορούν να δικαιολογήσουν πάνω από το 50% της παρατηρούμενης αυτής μεταβλητότητας⁸. Ήταν λοιπόν φανερό πως γενετικοί ή άγνωστοι, ακόμα περιβαλλοντικοί, παράγοντες διαδραμάτιζαν ένα σημαντικό ρόλο, τόσο στην έναρξη όσο και στην εξέλιξη της νεφρικής νόσου.

Η ανάπτυξη της μοριακής γενετικής και η βελτίωση των μεθόδων ανάλυσης του ανθρώπινου γονιδιώματος πρόσφεραν τα τελευταία χρόνια νέες δυνατότητες διαγνωστικής προσπέλασης και κλινικής διαχείρισης των ασθενών με χρόνιες νεφροπάθειες, επιτρέποντας τη στοχευμένη νοσολογική επίτηρηση (disease surveillance) της ΧΝΝ και αναδεικνύοντας σταδιακά τα πολλαπλά οφέλη από την υιοθέτηση γενετικών διαγνωστικών μεθόδων. Πέρα από την αιτιολογική αποσαφήνιση της νόσου, οι μέθοδοι αυτές επιτρέπουν τον επαναπροσδιορισμό της θεραπευτικής προσέγγισης των ασθενών με γενετική νόσο, δημιουργούν δυνατότητες γενετικής συμβουλευτικής της οικογένειας, εντοπίζουν πρόωμα «υποψήφιους» ασθενείς, ελαττώνουν το κόστος της διαγνωστικής αβεβαιότητας και των διαδοχικών εξετάσεων που σχετίζονται με αυτήν, καθορίζουν τις επιλογές του λήπτη σε περίπτωση μεταμόσχευσης νεφρού και οδηγούν στην έγκαιρη αναγνώριση των εξωνεφρικών εκδηλώσεων που συνοδεύουν αρκετά από τα νοσήματα αυτά.

Στην περίπτωση της νεφρικής νόσου, όταν μι-

λάμε για γενετικά καθοριζόμενα νεφρικά νοσήματα, ουσιαστικά αναφερόμαστε σε ένα ευρύ αιτιοπαθογενετικό φάσμα το οποίο εκτείνεται από τις μονογονιδιακές νεφρικές παθήσεις, στις οποίες η παθολογία παραλλαγή σε ένα γονίδιο είναι ικανή να οδηγήσει στην εκδήλωση ενός παθολογικού νεφρικού φαινότυπου, μέχρι και την πολυγονιδιακή διάσταση της νεφρικής νόσου.

Οι μονογονιδιακές νεφροπάθειες, που προκαλούνται από παθολογικές παραλλαγές σε μονήρη γονίδια, είναι γνωστό πως αποτελούν μια σημαντική, αν και υποεκτιμημένη, αιτία ΧΝΝ. Τα ερευνητικά δεδομένα αποδεικνύουν πως ευθύνονται για το 70% των περιπτώσεων ΧΝΝΤΣ στα παιδιά και το 10-15% των περιπτώσεων στους ενήλικες^{9,10,11}. Σε ασθενείς με ΧΝΝ αναγνωρίζεται γονιδιακή αιτία νεφροπάθειας στο 10% περίπου¹², αλλά τα ποσοστά αυτά μεταβάλλονται διαρκώς, καθώς νέες παθολογικές παραλλαγές γονιδίων έρχονται στο ερευνητικό προσκήνιο, διευρύνοντας τον γενετικό ορίζοντα της νόσου. Είναι χαρακτηριστικό παράδειγμα το γεγονός ότι οι γνωστές μονογονιδιακές αιτίες εξηγούν τις μισές περίπου περιπτώσεις οικογενούς κορτικοανθεκτικού νεφρωσικού συνδρόμου, συγγενούς σωληναριοπάθειας και άτυπου αιμολυτικού ουραιμικού συνδρόμου, καθιστώντας σημαντική την απόσταση που πρέπει ακόμα να διανυθεί μέχρι την πλήρη αποσαφήνιση του γενετικού υποστρώματος της νεφρικής νόσου¹³. Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωριστεί περισσότερες από 600 μονογονιδιακές αιτίες ΧΝΝ¹⁴ οι οποίες αφορούν σε όλες τις δομές του νεφρικού παρεγχύματος (σπείραμα, νεφρικό σωληνάριο, διάμεσος χώρος) και οι οποίες περιλαμβάνουν τόσο αυτοτελείς νοσολογικές μορφές νεφρικής νόσου όσο και σύνδρομα με νεφρική βλάβη.

Η πολυγονιδιακή νεφροπάθεια, αντιθέτως, αναφέρεται ουσιαστικά στη γενετική προδιάθεση εμφάνισης νεφρικής νόσου, είτε στο πλαίσιο κάποιων γνωστής νοσολογικής οντότητας με μεγάλο νεφροτοξικό δυναμικό (π.χ ΣΔ) είτε σε άλλα νοσολογικά πλαίσια με ποικίλους βαθμούς συσχέτισης. Η προδιάθεση αυτή έχει πολυπαραγοντική φύση, με σημαντική γενετική συνιστώσα και μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί εκατοντάδες συσχετίσεις γονιδιακών τόπων και Σημειακών Νουκλεοτιδικών Πολυμορφισμών (Single Nucleotide Polymorphisms/SNPs) με φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της νεφρικής λειτουργίας, όπως ο ΡΣΔ και η λευκωματινουρία καθώς και με συγκεκριμένες νοσολογικές οντότητες ΧΝΝ.

Αυτή όμως η διάκριση μεταξύ μονογονιδιακών/μενδελικών νοσημάτων, στα οποία υπάρχει μια ξεκάθαρη αιτιώδης σχέση του παθολογικού γονότυπου με τον φαινότυπο και ενός όλιγο/πολυγονιδιακού προτύπου βλάβης, στο οποίο απαιτείται η συνύπαρξη πολλών κοινών «παθολογικών» αλληλόμορφων, πιθανώς σε αλληλεπίδραση και με άλλους παράγοντες προκειμένου να εκδηλωθεί ο φαινότυπος της νόσου, συνιστά μια απλοποιημένη προσέγγιση μιας σύνθετης πραγματικότητας.

Στην πραγματικότητα οι γενετικές παραλλαγές που εμπλέκονται στην πρόκληση νεφρικής βλάβης συνιστούν ένα ευρύ γενετικό φάσμα, τα άκρα του οποίου αντιστοιχούν από τη μία μεριά σε σπάνιες παραλλαγές (συχνότητα ελάσσονος αλληλόμορφου, MAF < 1%) με υψηλή διεισδυτικότητα (100%), που προκαλούν διακριτές κλινικοπαθολογικές οντότητες και από την άλλη μεριά σε συχνές παραλλαγές (MAF > 5%) με χαμηλή διεισδυτικότητα που συμμετέχουν σε πολυγονιδιακά πρότυπα νεφρικής βλάβης και οι οποίες αναδεικνύονται τα τελευταία χρόνια με τις GWAS. Η γενετική αρχιτεκτονική της ΧNN (Εικόνα 1) συμπληρώνεται από παραλλαγές με MAF μεταξύ 0,5% και 5% και ενδιάμεση διεισδυτικότητα ή σπάνιων γενετικών παραλλαγών με MAF < 0,5% και χαμηλή διεισδυτικότητα.¹⁵ Οι παραλλαγές αυτές δεν μπορούν να ανιχνευτούν μέσω των GWAS Μελετών, ενώ η χαμηλή επίπτωση που έχουν στον φαινότυπο τα καθιστά «αθέατα» και από τις μελέτες γενετικής σύνδεσης σε οικογένειες (linkage analysis in family studies). Όταν η MAF πέφτει < 0,5% η ανίχνευση των αντίστοιχων συσχετίσεων

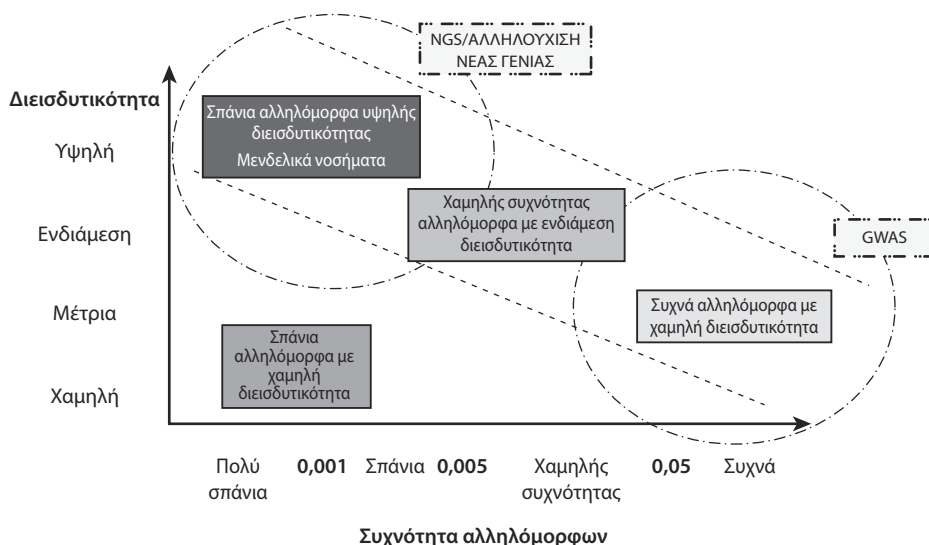
καθίσταται αδύνατη, εκτός αν η διεισδυτικότητα των εν λόγω παραλλαγών (επίδραση στον φαινότυπο) είναι μεγάλη, όπως συμβαίνει στα αλληλόμορφα με Μενδελικού τύπου κληρονομικότητα (μονογονιδιακές παθήσεις).

Οι παραλλαγές με χαμηλή συχνότητα και ενδιάμεση διεισδυτικότητα (low frequency variants with intermediate effect) είτε εκδηλώνονται με Μενδελικό τρόπο κληρονομικότητας και ατελή διεισδυτικότητα, είτε συμμετέχουν ως αλληλόμορφα χαμηλής διεισδυτικότητας σε όλιγο και πολυγονιδιακά πρότυπα νεφρικής βλάβης, ολοκληρώνοντας ουσιαστικά το γονιδιακό συνεχές της ΧNN.¹⁵

Εντούτοις οι γενετικές παραλλαγές που έχουν ταυτοποιηθεί μέχρι σήμερα αδυνατούν να εξηγήσουν το σύνολο της γενετικής προδιάθεσης εμφάνισης νεφρικής νόσου, οδηγώντας τους ερευνητές στη διατύπωση της θεωρίας της χαμένης κληρονομησιμότητας. Πράγματι τα μονογονιδιακά αίτια χρόνιας νεφροπάθειας εξηγούν μόλις το 10% των συνολικών περιστατικών ΧNN¹² ενώ και τα κοινά αλληλόμορφα τα οποία αναδεικνύονται με τις GWAS μελέτες εξηγούν μόνο το 20% της κληρονομησιμότητας του ΡΣΔ.¹⁶

Πολλές εξηγήσεις έχουν προταθεί προκειμένου να εξηγηθεί το χάσμα μεταξύ της παρατηρούμενης κληρονομησιμότητας και της συχνότητας εμφάνισης των συνηθέστερων γενετικών παραλλαγών που ταυτοποιούνται με τις GWAS μελέτες, όπως:

- άλλες συχνές γενετικές παραλλαγές με χαμηλή διεισδυτικότητα που απομένει να ταυτοποιηθούν μελετώντας ακόμα μεγαλύτερους πληθυσμούς



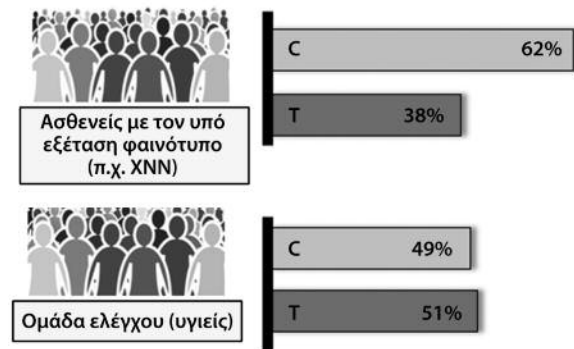
Εικόνα 1. Η γενετική αρχιτεκτονική του νεφρού.

- σπάνιες παραλλαγές πιθανώς με υψηλότερη διεισδυτικότητα που δεν μπορούν να ταυτοποιηθούν με τις GWAS μελέτες
- φαινόμενα επίστασης¹⁷
- ανάγκη συμπερίληψης των αλληλεπιδράσεων γονιδίων και περιβάλλοντος στους υπό εξέταση φαινότυπους
- επίδραση άλλων γενετικών και επιγενετικών παραγόντων: μήκος τελομερών¹⁸, παραλλαγές αριθμού αντιγράφων (Copy Number Variants/CNV)¹⁹, μεθυλίωση DNA²⁰, μιτοχονδριακό DNA²¹ κ.α

Μέχρι πάντως να αποσαφηνιστεί ο ρόλος αυτών των παραγόντων η γενετική αρχιτεκτονική της XNN συνιστά ένα σύνθετο οικοδόμημα με πολλαπλά επίπεδα γονιδιακής έκφρασης και αλληλεπιδράσεων, επάνω στο οποίο επιδρούν επιγενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες, μεταβάλλοντας τις φαινοτυπικές εκφράσεις του γονιδιώματος και δημιουργώντας προοπτικές εξατομικευμένης ιατρικής, επάνω σε καλά καθορισμένα καθολικά πρότυπα χρόνιας νεφρικής βλάβης.

2. Οι Μελέτες Ευρείας Γονιδιωματικής Συσχέτισης (GWAS) στη XNN

Από το 2007 και μετά η εισαγωγή σύγχρονων μεθόδων γενετικής ανάλυσης όπως οι GWAS μελέτες έδωσαν μεγάλη ώθηση στο πεδίο της γενετικής των νεφρικών νοσημάτων, αποκαλύπτοντας καινούριους γενετικούς τόπους και εμπλέκοντας άγνωστους μέχρι τότε παθογενετικούς μηχανισμούς στην πρόκληση νεφρικής βλάβης. Με τις μελέτες αυτές, οι οποίες αποτελούν μελέτες ελεύθερες υποθέσεων (unbiased), οι ερευνητές δεν εστιάζουν σε συγκεκριμένα γονίδια αλλά ελέγχουν όλη την έκταση του γονιδιώματος, επιχειρώντας να καταδείξουν συσχετίσεις μεταξύ SNPs και νοσημάτων ή φαινοτυπικών χαρακτηριστικών. Η οργάνωσή τους είναι απλή στη σύλληψη της: οι συμμετέχοντες χωρίζονται σε δυο ομάδες: υγιείς (ομάδα ελέγχου/control) και άτομα που φέρουν τον υπό εξέταση φαινότυπο (νόσο ή χαρακτηριστικό). Στη συνέχεια αναλύονται οι SNPs σε κάθε μια από τις ομάδες αυτές και συγκρίνονται μεταξύ τους. Η ανεύρεση ενός SNP στην ομάδα των ασθενών η οποία παρουσιάζει σημαντικά διαφορετική συχνότητα από αυτή στην ομάδα ελέγχου εντοπίζει έναν υποψήφιο γενετικό τόπο που πιθανώς συσχετίζεται με τον φαινότυπο που εξετάζεται κάθε φορά (Εικόνα 2).



Εικόνα 2. Αδρός σχεδιασμός των GWAS μελετών: Η ανεύρεση ενός SNP στην ομάδα των ασθενών η οποία παρουσιάζει σημαντικά διαφορετική συχνότητα από αυτή στην ομάδα ελέγχου εντοπίζει έναν υποψήφιο γενετικό τόπο που πιθανώς συσχετίζεται με τον φαινότυπο που εξετάζεται κάθε φορά.

Αυτό φυσικά δεν μεταφράζεται αυτόματα σε αιτιώδη σχέση μεταξύ της παραλλαγής και του φαινότυπου. Αντιθέτως, στις περισσότερες περιπτώσεις η συσχέτιση αυτή παρατηρείται λόγω ανισορροπίας σύνδεσης μεταξύ της υπό εξέταση γενετικής παραλλαγής και των αλληλόμορφων γονιδίων που αληθινά εμπλέκονται στην παθογένεση του νοσολογικού φαινότυπου. Το φαινόμενο της ανισορροπίας σύνδεσης αναφέρεται στο γεγονός πως γονίδια που βρίσκονται σε σχετικά μικρή απόσταση μεταξύ τους πάνω στο ίδιο χρωμόσωμα συγληρονομούνται μαζί και επομένως η ανεύρεση μιας συσχέτισης μεταξύ μιας νόσου και ενός SNP πιθανώς αντανακλά την αιτιοπαθογενετική σχέση ενός γειτονικού (ή ακόμα και απομακρυσμένου) γονιδίου με τη νόσο αυτή.

Οι κυριότερες GWAS στον χώρο της νεφρολογίας επέλεξαν ως βασικό χαρακτηριστικό (trait) της XNN τον εκτιμώμενο ΡΣΔ που βασίζεται στην κάθαρση της κρεατινίνης ($eGFR_{cre}$), ενώ συμπληρωματικά χρησιμοποιήθηκαν και άλλα χαρακτηριστικά όπως ο εκτιμώμενος ΡΣΔ με βάση την κυστατίνη C ($eGFR_{cre}$) και το επίπεδο της λευκοματινουρίας (Urine albumin creatinine ratio/UACR). Παράλληλα διενεργήθηκαν παρόμοιες μελέτες και σε ειδικούς υποπληθυσμούς ασθενών με XNN όπως η IgA, η διαβητική και η μεμβρανώδης νεφροπάθεια. Με την προσέγγιση αυτή αναδύθηκαν δεκάδες σημαντικές γενετικές παραλλαγές οι οποίες όμως αφενός ασκούν πολύ μικρή επίδραση στον υπό εξέταση φαινότυπο και αφετέρου απαιτούν πολύ μεγάλους πληθυσμούς προκειμένου να αποκαλυφθούν.

Μια από τις πρώτες οργανωμένες GWAS μελέ-

τες στη νεφρολογία έγινε από τους Kottgen et al σε πληθυσμό 20.000 ατόμων, αναδεικνύοντας σημαντικές συσχετίσεις των υπό εξέταση φαινοτυπικών χαρακτηριστικών (XNN, eGFRcre, GFRcys) με SNPs στα γονίδια *UMOD* (XNN και eGFRcre), *SHROOM3* (eGFRcre) και *STC1* (eGFRcys). Οι σχετιζόμενοι με τον eGFRcrea γενετικοί τόποι εξηγούν μόλις το 0,43% της μεταβλητότητας του δείκτη, καταδεικνύοντας τη μικρή επίδραση που ασκούν οι πολυμορφισμοί αυτοί στον υπό εξέταση φαινότυπο.^{22,23}

Η ίδια ερευνητική ομάδα επανέλαβε μια νέα μελέτη σε 67.000 άτομα επιβεβαιώνοντας τα προηγούμενα ευρήματα της για τους SNPs στα γονίδια *UMOD*, *SHROOM3* και *STC1* και αναδεικνύοντας 20 καινούριους γενετικούς τόπους εκ των οποίων οι 13 σχετίζονταν με τη νεφρική λειτουργία και τον κίνδυνο εμφάνισης XNN (*LASS2*, *GCKR*, *ALMS1*, *TFDP2*, *DAB2*, *SLC34A1*, *VEGFA*, *PRKAG2*, *PIP5K1B*, *ATXN2*, *DACH1*, *UBE2Q2* και *SLC7A9*) και οι υπόλοιποι 7 με τον μεταβολισμό της κρεατινίνης (παραγωγή και νεφρική απέκκριση) (*CPS1*, *SLC22A2*, *TMEM60*, *WDR37*, *SLC6A13*, *WDR72* και *BCAS3*). Οι 13 αυτοί γενετικοί τόποι, μαζί με τους 3 παλαιότερους, ευθύνονταν αυτή τη φορά για το 1,4% της μεταβλητότητας του eGFRcre.²⁴

Οι Chambers et al στη συνέχεια, αφενός επιβεβαίωσαν τις συσχετίσεις των προηγούμενων ερευνητών ως προς τη σχέση της XNN και των επιπέδων κρεατινίνης και κυστατίνης C με τους γονιδιακούς τόπους *UMOD*, *SHROOM3* και *STC1* και αφετέρου ανέδειξαν και άλλους πολυμορφισμούς κοντά στα γονίδια *NAT8* και *SLC7A9* που σχετίζονταν με τα φαινοτυπικά αυτά χαρακτηριστικά.²⁵ Η συσχέτιση γενετικών παραλλαγών του γονιδίου *UMOD* με τη XNN επιβεβαιώθηκε και από τους Gudbjartsson et al, οι οποίοι μελετώντας ισλανδικούς πληθυσμούς επιβεβαίωσαν τον αυξημένο κίνδυνο XNN και ΑΥ σε ασθενείς που έφεραν το T μείζον αλληλόμορφο rs4293393, με τον κίνδυνο αυτό να εμφανίζει έντονη ηλικιο-εξάρτηση, ιδίως όταν συνυπήρχαν και άλλοι παράγοντες κινδύνου όπως ΣΔ και ΑΥ.²⁶

Παρομοίως οι Pattaro et al, σε μεγάλη μελέτη με πάνω από 130.000 Ευρωπαίους, αποκάλυψαν 6 καινούριους γενετικούς τόπους (*MPPED2*, *DDX1*, *CASP9*, *SLC47A1*, *CDK12*, *INO80*) σχετιζόμενους με τη νεφρική λειτουργία οι οποίοι φαινόταν να δρουν ανεξάρτητα στην πρόκληση νεφρικής βλάβης από τους συνυπάρχοντες παράγοντες κινδύνου.

Έτσι επιβεβαίωσαν την υπόθεση εργασίας για μια «κοινή» γενετική προδιάθεση επάνω στην οποία επιδρούν γνωστοί παράγοντες κινδύνου για να προκαλέσουν τελικά XNN. Από τους γενετικούς αυτούς τόπους οι *MPPED2* και *CASP9* μελετήθηκαν και σε πειραματικά μοντέλα knockdown εμβρύων Zebrafish τα οποία εμφάνιζαν παθολογικούς ποδοκυτταρικούς δείκτες, παθολογική έκφραση δεικτών ποδοκυττάρων και άπω σωληναρίων, ελαττωμένη κάθαρση δεξτράνης, οίδημα και αυξημένη ευπάθεια στη διαμεσολαβούμενη από την γενταμυκίνη νεφρική βλάβη.²⁷

Η ίδια ερευνητική ομάδα προχώρησε σε μια ακόμα μεγάλη μετα-ανάλυση από την οποία προέκυψαν επίσης 24 καινούριοι γενετικοί τόποι, ενώ επιβεβαιώθηκαν οι συσχετίσεις με 29 παλιότερους τόπους άλλων μελετών.²⁸ Οι SNPs που αναδείχθηκαν σχετίζονται με τη ρύθμιση γονιδίων που εκφράζονται σχεδόν αποκλειστικά στον νεφρό και στα επιθηλιακά του κύτταρα, αλλά όχι στα σπειραματικά ενδοθηλιακά κύτταρα ή τα αγγεία, ενώ οι παραλλαγές αυτές δεν φαίνονται να εμπλέκονται σε αγγειακά χαρακτηριστικά όπως η ΑΥ και η στεφανιαία νόσος. Ως εκ τούτου ο γενετικός καθορισμός του ΡΣΔ αποδίδεται σε άμεση δράση των υπεύθυνων γονιδίων στον νεφρό και όχι στην επίδραση τους σε άλλους νοσολογικούς φαινότυπους, όπως η ΑΥ και ο ΣΔ.

Υπάρχουν ακόμα δυο μεγάλες GWAS μελέτες με > 1.000.000 πληθυσμό η καθεμία, στις οποίες ταυτοποιήθηκαν 264 και 424 αντίστοιχα σχετιζόμενοι γενετικοί τόποι με τον eGFRcre. Με την ενσωμάτωση και άλλων βιοδεικτών, όπως η κυστατίνη C και η ουρία, οι σχετιζόμενοι με τη νεφρική λειτουργία γενετικοί τόποι περιορίστηκαν σε 147 και 348 αντίστοιχα^{16,29}. Οι Wuttke et al δοκίμασαν επίσης και ένα γενετικό σκορ (GRS/ Genetic Risk Score) βασισμένο στις 147 αυτές γενετικές παραλλαγές προκειμένου να αξιολογήσουν τον κίνδυνο εμφάνισης XNN και κατέδειξαν υψηλότερη πιθανότητα (odds ratio) για XNN, σπειραματοπάθειες, οξεία νεφρική βλάβη και υπερτασική νόσο σε χαμηλότερο GRS σκορ, που μεταφράζεται σε χαμηλότερους γενετικά καθοριζόμενους ΡΣΔ.

Οι μελέτες αυτές, χρησιμοποιώντας την κρεατινίνη και τον ΡΣΔ ως βασικά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά/εκβάσεις (outcomes), οδηγούν σε συμπεράσματα γενετικής συσχέτισης τα οποία είναι φανερό πως δεν μπορούν να μεταφραστούν αυτό-

ματα και σε αντίστοιχες συσχετίσεις των γενετικών τόπων με την κλινική εικόνα. Εντούτοις φαίνεται από αρκετές άλλες μελέτες πως τα συμπεράσματα από τις μελέτες αυτές των συνεχών χαρακτηριστικών (continuous traits) της νεφρικής λειτουργίας μπορούν να επεκταθούν και στις περιπτώσεις των νοσημάτων με τις οποίες σχετίζονται. Έτσι οι γενετικοί τόποι που σχετίζονται με τον ΡΣΔ σχετίζονται επίσης και με την ΧΝΝ, ενώ αυτοί του UACR εμφανίζουν συσχέτιση και με τη λευκωματινουρία³⁰.

Αντίθετα, οι μελέτες που προσέγγισαν τη γενετική προδιάθεση της ΧΝΝ από τη σκοπιά της λευκωματινουρίας ήταν σχετικά περιορισμένες και δεν ανέδειξαν αλληλοεπικάλυψη μεταξύ των γονιδίων προδιάθεσης για ΧΝΝ και έκπτωσης του ΡΣΔ με εκείνα για την εμφάνιση λευκωματινουρία, προκρίνοντας ένα παθογενετικό μοντέλο διακριτής γενετικής προδιάθεσης για τα δυο αυτά συνεχή χαρακτηριστικά της δομικής και λειτουργικής ακεραιότητας του νεφρού^{6,31}. Εξάιρση αποτέλεσε το γονίδιο *SHROOM3* για το οποίο αναδείχθηκε συσχέτιση τόσο με τον ΡΣΔ όσο και με το UACR³².

Αν και η κληρονομησιμότητα της λευκωματινουρίας κυμαίνεται μεταξύ 16% και 49%³³ οι GWAS μελέτες δεν κατάφεραν ακόμα να αποσαφηνίσουν το γενετικό της τοπίο, με τους γενετικούς τόπους που έχουν ταυτοποιηθεί μέχρι σήμερα να εμφανίζουν σημαντική μεταβλητότητα μεταξύ των διαφορετικών φυλετικών ομάδων και των ομάδων ασθενών. Σημαντικές συσχετίσεις αναδείχθηκαν για το γονίδιο της Cubilin (*CUBN*)^{31,33}, καθώς ασθενείς με ΣΔ τύπου Ι που φέρουν τον SNP rs1801239 εμφανίζουν 41% αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης λευκωματινουρίας, όπως και για τον γενετικό τόπο *HBB*³⁴, ενώ σε μια ενδιαφέρουσα μελέτη Μενδελικής τυχαιοποίησης οι Haas et al ανέδειξαν 33 γενετικούς τόπους σχετιζόμενους με τη λευκωματινουρία³⁵.

3. Από τις GWAS μελέτες στην αιτιοπαθογένεια της ΧΝΝ

Στη νεφρολογία αγνοούμε σε μεγάλο βαθμό τους βιολογικούς μηχανισμούς που βρίσκονται πίσω από τη ΧΝΝ και αυτό πρακτικά μεταφράζεται σε έλλειψη θεραπευτικών στόχων και απουσία αποτελεσματικών θεραπειών. Η έλευση των GWAS μελετών επιχείρησε να επιλύσει αυτό το πρόβλημα. Με αυτές άρχισε σταδιακά να εμπλουτίζεται η γνώση μας για την παθογένεια της ΧΝΝ, επιτρέποντας την ανάδειξη γενετικών τόπων με πιθανή συμμετοχή

στους μηχανισμούς της νεφρικής βλάβης. Αν και τα δεδομένα που προέκυψαν μέχρι σήμερα από τις μελέτες αυτές απέχουν ακόμα πολύ από την ταυτοποίηση συγκεκριμένων γονιδίων και την ξεκάθαρη ανάδειξη των βιολογικών τους αποτυπωμάτων πάνω στη χρόνια νεφροπάθεια, εντούτοις οι υποψήφιες γενετικές συσχετίσεις έδωσαν ώθηση σε μια εργώδη ερευνητική προσπάθεια αποσαφήνισης των ζητημάτων αυτών.

Το κρίσιμο σημείο σε αυτές τις μελέτες ήταν από την πρώτη στιγμή η μετάφραση των συσχετίσεων γονιδιακών τόπων και ΧΝΝ με συγκεκριμένα παθογενετικά γονίδια και στο πως αυτά επηρεάζουν κρίσιμες βιολογικές διαδικασίες στα επιμέρους τμήματα του νεφρού. Μέχρι σήμερα δεν είναι απολύτως ξεκάθαρο σε ποιους κυτταρικούς τύπους είναι ενεργές αυτές οι γενετικές παραλλαγές που αποτυπώνονται στις GWAS μελέτες και πώς αυτές επιδρούν σε συγκεκριμένα βιολογικά μονοπάτια, καθώς η πλειοψηφία των παραλλαγών εντοπίζονται σε μη κωδικές περιοχές του γονιδιώματος. Το γεγονός αυτό υπονομεύει σημαντικά την απλουστευτική προσέγγιση των γενετικών παραλλαγών σύμφωνα με την οποία μια αλλαγή του γονιδιώματος προκαλεί νόσο ή αυξάνει την προδιάθεση για νόσο, μέσω της άμεσης επίδρασης που αυτή έχει στην κωδικοποίηση της αντίστοιχης πρωτεΐνης. Αντιθέτως φαίνεται πως πολλές από τις παραλλαγές εντοπίζονται σε ρυθμιστικές περιοχές των γονιδίων, ειδικές για κάθε κυτταρικό τύπο³⁶, και μεταβάλλουν την ένταση σύνδεσης μεταγραφικών συμπλόκων και συνεπώς τον βαθμό έκφρασης των σχετιζόμενων γονιδίων. Επιπρόσθετα, πολλές από τις ρυθμιστικές περιοχές στις οποίες εντοπίζονται οι SNPs ενδέχεται να επηρεάζουν την έκφραση απομακρυσμένων γονιδίων καθώς και να εμφανίζουν σημαντική κύτταρο-ειδικότητα, γεγονός που καθιστά ιδιαίτερα δύσκολη τη διαδικασία ταυτοποίησης των υπεύθυνων γονιδίων και των παθογενετικών μηχανισμών που αυτά πυροδοτούν³⁶.

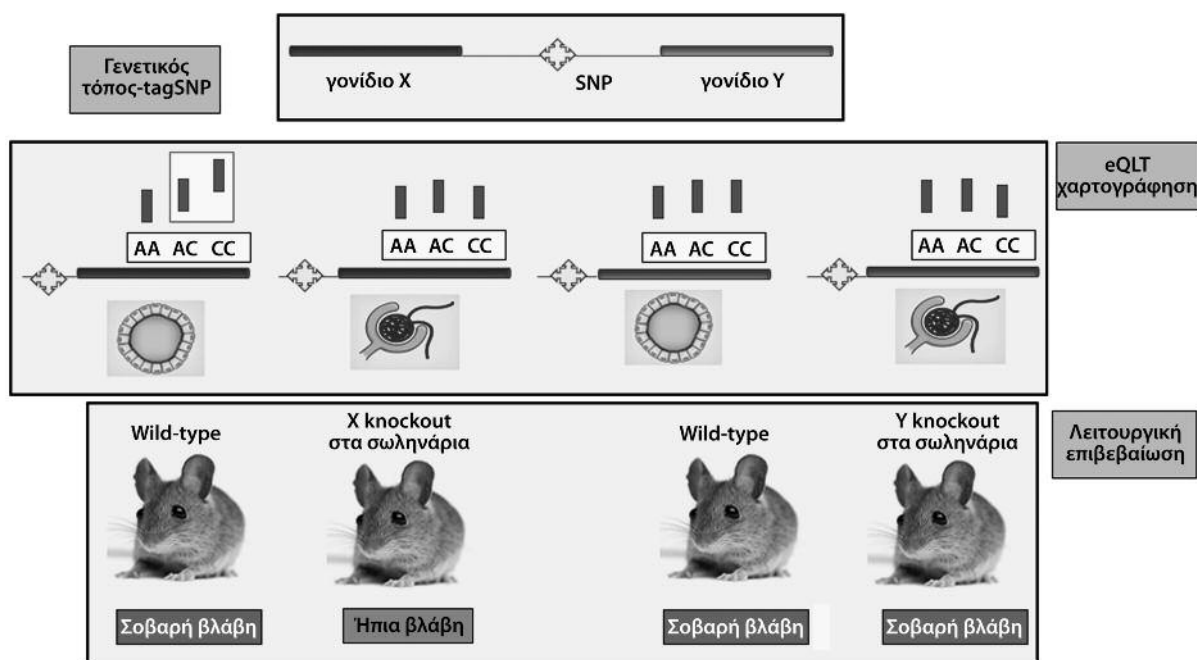
Για να διευκρινισθούν οι συσχετίσεις που προκύπτουν από τις GWAS μελέτες χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση των γονιδιακών τόπων που σχετίζονται με ποσοτικά χαρακτηριστικά (QTL/Quantitative Trait Loci) προκειμένου να εντοπιστούν τα υπεύθυνα γονίδια και έτσι αναδείχθηκε η σημασία γονιδίων όπως το *UMOD* και το *SHROOM3*. Από την άλλη πλευρά όμως, το γεγονός πως οι γενετικές παραλλαγές εδράζονται σε ρυθμιστικές περιοχές του γο-

νιδιώματος που εμφανίζουν κύτταρο-ειδικότητα (cell type specific) και συνεπώς επηρεάζουν τη γονιδιακή έκφραση μόνο στους συγκεκριμένους κυτταρικούς τύπους που εμπλέκονται στην πρόκληση νόσου, καθιστά τις μεθόδους αυτές των GWAS-QTL εξαιρετικά αδύναμες στο να εντοπίσουν τα υπεύθυνα γονίδια της ΧΝΝ. Εναλλακτικές μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια, επιχειρώντας να πραγματοποιήσουν QTL αναλύσεις σε επιμέρους δομές του νεφρού, όπως είναι τα σπειράματα και τα νεφρικά σωληνάκια, οδηγώντας στην ταυτοποίηση συγκεκριμένων γονιδίων που εμπλέκονται στην πρόκληση νεφρικής νόσου (Εικόνα 3). Με τον τρόπο αυτό αναδείχθηκαν γονίδια όπως το *DAB2* και το *MANBA*, τα προϊόντα των οποίων εμπλέκονται στη λειτουργική ακεραιότητα του σωληναριακού μηχανισμού ενδοκυττάρωσης-λυσοσωμάτων αναδεικνύοντας το εν λόγω μονοπάτι σε κρίσιμης σημασίας μηχανισμό πρόκλησης νεφρικής βλάβης.

Μια ακόμα ενδιαφέρουσα προσέγγιση στην προσπάθεια εντοπισμού των υπεύθυνων γονιδίων, αποτελεί και η γενετική σύγκριση των ζωικών μο-

ντέλων αρουραίου FHH (Fawn-Hooded Hypertensive), τα οποία είναι γνωστό πως εμφανίζουν αυξημένη προδιάθεση εμφάνισης ΑΥ και ΧΝΝ, με τα ανθεκτικά στην ανάπτυξη ηλικιο-εξαρτώμενης νεφρικής βλάβης μοντέλα BN (Brown Norway), μέσα από την οποία ταυτοποιήθηκαν γενετικές παραλλαγές σε γονίδια τα οποία πιθανώς να εμπλέκονται στην προδιάθεση ανάπτυξης ΧΝΝ. Αρκετά από τα γονίδια αυτά, όπως τα *Umod*, *Alms1*, *Tfdp2*, *Dab2*, *Prkg2*, *Ino80*, *Casp9*, *Mecom*, *Gnas* και *Aldh2*, έχουν αναγνωριστεί παράλληλα και από τις GWAS μελέτες³⁷ ανοίγοντας σημαντικές προοπτικές στοχευμένης ερευνητικής επιτήρησης των αντίστοιχων προϊόντων τους και του τρόπου με τον οποίο αυτά εμπλέκονται στη χρόνια νεφροπάθεια.

Αν και μέχρι σήμερα η γνώση μας γύρω από τα γονίδια αυτά είναι αρκετά περιορισμένη, εντούτοις γνωρίζουμε με σχετική βεβαιότητα πως οι γενετικές τους παραλλαγές δεν σχετίζονται με την εμφάνιση των μειζόνων παραγόντων κινδύνου για νεφρική νόσο, όπως ο ΣΔ και η ΑΥ, αλλά με τη νεφρική λειτουργία αυτή καθ' αυτή. Συνεπώς η πρόκληση βλά-



Εικόνα 3. Αλγόριθμος προσδιορισμού του υπεύθυνου γονιδίου: 1. εντοπισμός ενός tagSNP σε μια GWAS μελέτη που σχετίζεται με τον κίνδυνο εμφάνισης ΧΝΝ. Το tagSNP γειτονεύει με 2 υποψήφια γονίδια 2) πραγματοποίηση QTL χαρτογράφησης ανά διαμέρισμα του νεφρού (σωληνάκια και σπειράματα) για τα δυο γονίδια: η έκφραση του X γονιδίου επηρεάζεται από την γενετική παραλλαγή (SNP) στο σωληναριακό διαμέρισμα του νεφρού. Αντιθέτως η έκφραση του Y γονιδίου δεν επηρεάζεται από την γενετική παραλλαγή 3) δημιουργία ποντικών με εκλεκτικό knockout του X και του Y γονιδίου στα νεφρικά σωληνάκια: η χορήγηση μεγάλων ποσοτήτων φολικού οξέος στα ποντίκια (wild-type και knockout) που ως γνωστόν επάγει ινωτική βλάβη στο νεφρικό παρέγχυμα προκαλεί σοβαρή βλάβη σε όλα τα ποντίκια εκτός από εκείνα με Knockout του X γονιδίου στα σωληνάκια

βης φαίνεται να προκαλείται από αύξηση της ευπάθειας του νεφρικού παρεγχύματος στη δράση των νεφροτοξικών παραγόντων κινδύνου²⁸. Σε αντίθεση με τους εκατοντάδες γενετικούς τόπους που σχετίζονται με τον ΡΣΔ, οι γενετικοί τόποι που εμφανίζουν διαφοροποίηση μεταξύ διαβητικών και μη διαβητικών ασθενών με ΧΝΝ είναι λίγοι, γεγονός που υποδηλώνει μια κοινή γενετική προδιάθεση έκπτωσης της νεφρικής λειτουργίας μεταξύ των ασθενών αυτών, η οποία λειτουργεί ανεξάρτητα από τους μείζονες παράγοντες κινδύνου³⁸. Η κοινή αυτή προδιάθεση δημιουργεί σημαντικές θεραπευτικές προεκτάσεις επειδή φάρμακα που στοχεύουν στη διατήρηση του ΡΣΔ, όπως οι αναστολείς των SGLT2 (Sodium glucose cotransporter-2) μεταφορέων, έχουν νεφροπροστατευτική δράση τόσο σε ασθενείς με ΣΔ όσο και σε ασθενείς με χρόνιες νεφροπάθειες μη διαβητικής αρχής³⁹.

Η πλειοψηφία των σημειακών πολυμορφισμών στις GWAS μελέτες αφορούν σε γονίδια τα οποία εμπλέκονται στη νεφρογένεση (*ALMS1*, *VEGFA*, δυνητικά *DACH1*), στη δομική και λειτουργική ακεραιότητα του πειραματικού ήθμου διήθησης και στην ποδοκυτταρική λειτουργία (*DAB2*, *PAR3B*, *VEGFA*), στην αγγειογένεση (*VEGFA*), στη σωληναριακή μεταφορά ουσιών (*SLC7A9*, *SLC34A1*, *SLC25A43*, *TPCN2*, *KCNMA1*, *MFSD6*) στον μεταβολισμό του νεφρού (*PRKAG2*, *L2HGDH*, *XYLB*, δυνητικά *GCKR* και *LASS2*) καθώς και στη λειτουργία των σωληναριακών κροσσών (*ALMS1*, *GCKR/IFT172*, *PAR3B*), ενώ σε κυτταρικό επίπεδο πολλά εξ αυτών συμμετέχουν στη μεταγραφή γονιδίων (*CASZ1*, *PPARGC1A*, *ZNF641*, *MED4-AS1*, *ZFH3*, *ZGPAT*, *MAFF*) και την κυτταρική σηματοδότηση και διαφοροποίηση (*ACVR2B*, *DCDC2*, *GRB10*, *THADA*, *TRIB1*, *PTPN3*)^{24, 40}. Έτσι αποκαλύπτεται ένα σύνθετο πλαίσιο γενετικής προδιάθεσης, στο οποίο πολλαπλά «μικρά» ελλείμματα της δομικής και λειτουργικής ακεραιότητας καθιστούν τον νεφρό ευάλωτο στο μείζον «stress» που υφίσταται από παράγοντες κινδύνου νεφρικής νόσου όπως ο ΣΔ, η ΑΥ, τα φάρμακα και οι ανοσολογικά επαγόμενες βλάβες.

Ένας σημαντικός αριθμός γονιδίων εντοπίζεται στο σωληναριακό διαμέρισμα, γεγονός που σημειώνει ότι το stress που ασκείται στο νεφρικό παρέγχυμα (π.χ από τον ΣΔ, την ΑΥ και πιθανώς τα ξενοβιοτικά) πυροδοτεί ένα κοινό παθογενετικό μονοπάτι που επικεντρώνεται στο νεφρικό επιθήλιο⁴¹. Είναι

γνωστό εξάλλου πως η διαμεσοσωληναριακή βλάβη και η ανάπτυξη διάμεσης ίνωσης αποτελούν κοινούς καταληκτικούς μηχανισμούς βλάβης σε όλες τις μορφές νεφρικής νόσου, συμπεριλαμβανομένων και των πειραματικών νοσημάτων. Η έκτασή τους καθορίζει τόσο τη βαρύτητα της νόσου όσο και την πιθανότητα απάντησης σε διάφορα θεραπευτικά σχήματα⁴². Ο τρόπος με τον οποίο ο χώρος αυτός απαντάει σε ένα αρχικό στρεσογόνο ερέθισμα, καθώς και οι δυνατότητες ιστικής επιδιόρθωσης που διαθέτει, είναι γενετικά καθορισμένοι και εμπλέκουν διάφορα γονίδια που εκφράζονται στις επιμέρους δομές του χώρου. Οι Sheng et al έδειξαν πως τα 182 γονίδια που πιθανώς σχετίζονται με τη νεφρική λειτουργία καθώς και με μεταβολικούς φαινότυπους (π.χ υπερχολερυθρία) εμφανίζουν υψηλή έκφραση στα εγγύς εσπειραμένα σωληνάκια, ενώ τα 88 γονίδια που σχετίζονται με την υπέρταση εμφανίζουν υψηλή έκφραση στα κύτταρα των άπω σωληναρίων⁴³. Επίσης, οι Stanzick et al ταυτοποίησαν, με την ανάλυση λειτουργικής προτεραιοποίησης (Gene functional Prioritization Analysis, GPA), 23 γονίδια, εκ των οποίων αρκετά (*GALNTL5*, *PPDF*, *SLC6A13*, *TFDP2*, *TPPP*, *YYLAPI*) παρουσίαζαν εκλεκτική έκφραση στον διαμεσοσωληναριακό χώρο²⁹.

Μια ακόμα ενδιαφέρουσα κατηγορία γενετικών παραλλαγών αφορά σε γονίδια τα οποία εμπλέκονται σε γνωστές μενδελικές μορφές νεφροπάθειας, ορισμένες από τις οποίες είναι καταχωρημένες ως καλοήθεις παραλλαγές, επιβεβαιώνοντας τα ρευστά όρια που εμφανίζει το παθογενετικό δυναμικό μιας γενετικής αλλαγής: *ALMS1*, *CNNM2*, *CYP24A1*, *CACNA1S*, *DACH1*, *DCDC2*, *GNAS*, *LRP2*, *MUC1*, *RPS10*, *SALL1*, *SCARB2*, *SDCCAG8*, *SHH*, *SLC34A1*, *SLC7A9*, *SMAD3*, *UMOD*, *PKHD1*, *NPHS1* και *HNFLA*^{29,40}. Για παράδειγμα η σπάνια γενετική παραλλαγή rs76572975 του *PKHD1* γονιδίου, ομόζυγες μεταλλάξεις του οποίου προκαλούν την αυτοσωμική υπολειπόμενη πολυκυστική νεφρική νόσο, εμφανίζει συσχέτιση με τη νεφρική λειτουργία. Παρόμοια συσχέτιση παρατηρείται και με τη συχνή παραλλαγή rs3814995 του *NPHS1* γονιδίου, που οι παραλλαγές του προκαλούν μια αυτοσωμική υπολειπόμενη μορφή συγγενούς νεφρωσικού συνδρόμου²⁹.

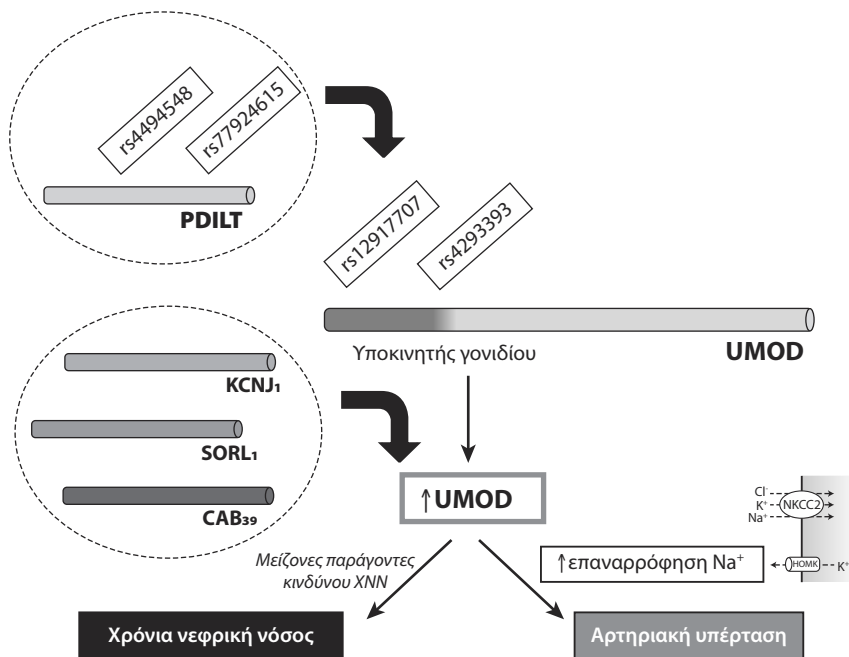
Από τα γονίδια που έχουν ταυτοποιηθεί μέχρι σήμερα ως σχετιζόμενα με τη γενετική προδιάθεση για την εμφάνιση ΧΝΝ ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν αυτά της *UMOD*, του *SHROOM3*, του

DAB2 και του *MANBA*, τα οποία κατά βάση μεσολαβούν σε κρίσιμες λειτουργίες του διαμεσοσωληναριακού χώρου.

3.1 Ουρομοδουλίνη (*UMOD*) ή πρωτεΐνη *Tamm-Horsfall*

Η ερευνητική έκρηξη σχετικά με το μόριο της *UMOD* συνέβη το 2009 όταν η ομάδα της Anna Kottgen διενήργησε μια από τις πρώτες GWAS μελέτες στον χώρο της Νεφρολογίας. Η ομάδα αυτή έδειξε τη συσχέτιση μεταξύ παραλλαγών (SNPs) στο γονίδιο της *UMOD* (rs12917707 και rs4293393) και του κινδύνου εμφάνισης ΧΝΝ^{22,23,24}. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση του rs4293393 που εδράζεται στον υποκινητή του γονιδίου υπάρχουν δύο αλληλόμορφα: το T αλληλόμορφο το οποίο σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ΧΝΝ στον γενικό πληθυσμό, με επιπολασμό της τάξης του 83% και το C αλληλόμορφο το οποίο απαντάται στο υπόλοιπο 17% του πληθυσμού και σχετίζεται με υψηλότερους ΡΣΔ και χαμηλότερα επίπεδα *UMOD* στα ούρα. Η παθογενετική συσχέτιση τεκμηριώθηκε λίγο αργότερα από τους Trudu et al⁴⁴, οι οποίοι συσχέτισαν για πρώτη φορά τον κίνδυνο εμφάνισης ΧΝΝ με τα επίπεδα της *UMOD* στα ούρα. Έγινε φανερό έτσι πως οι γενετικές παραλλαγές της *UMOD* αύξαναν τον κίνδυνο για ΧΝΝ μέσω της αυξημένης έκφρασης του γονιδίου και της αυξημένης παραγωγής της *UMOD*. Η δράση της τελευταίας στους αυλικούς συμμετα-

φορείς *NKCC2* ($\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ cotransporter) καθώς και στους διαύλους καλίου *ROMK* (*Renal outer medullary potassium channel*) στο παχύ ανιόν σκέλος της αγκύλης του Henle, αυξάνει τη δραστηριότητά τους και ερμηνεύει την εμφάνιση ΑΥ μέσω της αυξημένης επαναρρόφησης Na^+ ^{44,45}. Σημαντικά όμως ερωτήματα παραμένουν για τον μηχανισμό πρόκλησης νεφρικής βλάβης. Ένας προφανής μηχανισμός βλάβης θα ήταν αυτός που διαμεσολαβείται από την ΑΥ. Εντούτοις τα πειραματικά δεδομένα δεν επιβεβαιώνουν μια τέτοια συσχέτιση καθώς παρόμοιες νεφρικές βλάβες δεν ανευρίσκονται σε άλλα ζωικά μοντέλα υπέρτασης⁴⁶ ενώ από το άλλο μέρος βασικά γνωρίσματα αυτών των βλαβών (π.χ αυξημένα επίπεδα *Lcn2* και *Kim-1*) ανευρίσκονται σε αρκετές περιπτώσεις νεφροπάθειας σχετιζόμενης με την ηλικία (γεροντικός νεφρός). Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με πρόσφατα δεδομένα που υποστηρίζουν πως η συσχέτιση μεταξύ SNPs του *UMOD* γονιδίου και ΧΝΝ καθίσταται πιο έντονη σε ηλικιωμένα άτομα με παράλληλη συννοσηρότητα^{26,27}, καθιστούν πιθανό ένα παθογενετικό σενάριο διπλού χτυπήματος. Με βάση αυτό, οι γενετικές παραλλαγές του *UMOD* γονιδίου συμβάλλουν στη γενετική προδιάθεση εμφάνισης νεφρικής νόσου, η οποία όμως για να εκδηλωθεί απαιτεί την εμφάνιση και άλλων μειζόνων παραγόντων κινδύνου πρόκλησης νεφρικής βλάβης (Εικόνα 4).



Εικόνα 4. Παθογενετικό μοντέλο χρόνιας νεφρικής νόσου και αρτηριακής υπέρτασης σχετιζόμενες με την *UMOD*.

Πίνακας 1. SNPs του γονιδίου *UMOD* που σχετίζονται με φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της νεφρικής λειτουργίας

GWAS	SNP	Φαινότυπος
Kottgen et al, 2009 Olden et al, 2014	rs12917707	Το ελάσσον Τ αλληλόμορφο σχετίζεται με 20% μικρότερο κίνδυνο ΧΝΝ Το μείζον G αλληλόμορφο σχετίζεται με χαμηλότερους ΡΣΔ, μεγαλύτερο κίνδυνο ΧΝΝ καθώς και με αυξημένα επίπεδα <i>UMOD</i> στα ούρα
Kottgen et al, 2010	rs4293393	Το ελάσσον C αλληλόμορφο σχετίζεται με χαμηλότερα επίπεδα <i>UMOD</i> στα ούρα και υψηλότερους ΡΣΔ
Gudbjartsson et al, 2010 Padmanabhan et al, 2010	rs4293393 rs13333226	Το μείζον Τ αλληλόμορφο σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ΧΝΝ και ΑΥ Το ελάσσον G αλληλόμορφο σχετίζεται με μικρότερο κίνδυνο ΑΥ, χαμηλότερα επίπεδα <i>UMOD</i> στα ούρα και υψηλότερους ΡΣΔ

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης η συσχέτιση των επιπέδων της *UMOD* στα ούρα με γενετικές παραλλαγές σε άλλα γονίδια, όπως το γονίδιο *PDILT* (rs4494548, rs77924615)^{16,47} το οποίο είναι γνωστό πως εκφράζεται παροδικά κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του ουροποιητικού συστήματος και σχετίζεται με ανδρική υπογονιμότητα, καθώς και τα γονίδια *KCNJ1*, *CAB39* και *SORL1* τα οποία εμπλέκονται στις μεταφορικές διαδικασίες των σωληναριακών κυττάρων στο παχύ ανιόν σκέλος της αγκύλης του Henle⁴⁷.

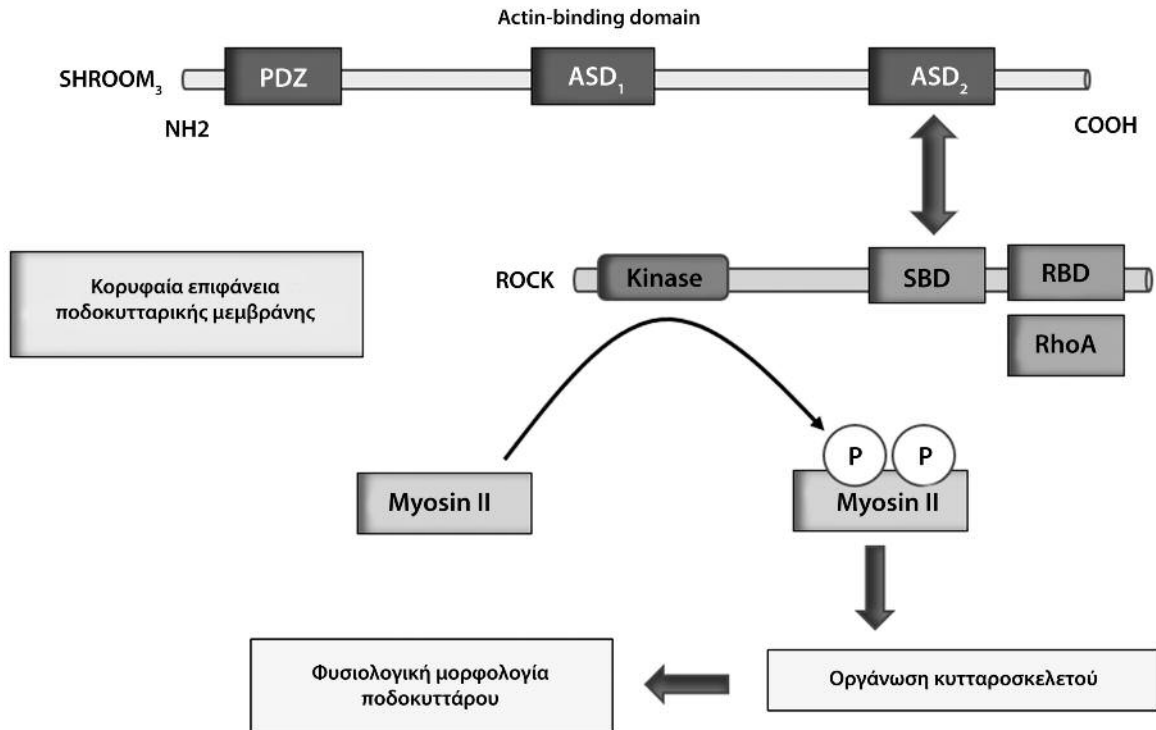
Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί διάφοροι SNPs στην περιοχή του υποκινητή του γονιδίου *UMOD* (Πίνακας 1), μεταξύ των οποίων οι rs13333226, rs12917707, rs6497476 και rs4293393 εμφανίζουν τις ισχυρότερες συσχετίσεις με γνωρίσματα (traits) της ΧΝΝ στους ευρωπαϊκούς πληθυσμούς^{22,26}. Σε ασιατικούς πληθυσμούς αντίθετα ο SNP rs11864909 διαδραματίζει σημαντικότερο ρόλο και αντικαθιστά τον rs12917707⁴⁸.

3.2 SHROOM3

Η SHROOM3 είναι μια πρωτεΐνη που συνδέεται με την ακτίνη (actin-binding protein) και συμμετέχει στη ρύθμιση της αρχιτεκτονικής των επιθηλιακών κυττάρων μέσω των αλληλεπιδράσεων της με τα νημάτια ακτίνης και τους μικροσωληνίσκους του κυτταροσκελετού. Ο ρόλος της στη σύσπαση της κορυφαίας επιφάνειας των επιθηλιακών κυττάρων (apical constriction) είναι καλά τεκμηριωμένος και μέσω της δράσης αυτής συμμετέχει σε κρίσιμες διεργασίες της εμβρυογένεσης, όπως η σύγκλιση του νευρικού σωλήνα, η μορφογένεση του εντέρου και ο σχηματισμός του πλακοειδούς του φακού (lens placode)⁴⁹. Η απάλειψη (knockout) του γονιδίου της σε πειραματόζωα είναι ασύμβατη με τη ζωή επειδή οδηγεί σε αδυναμία σύγκλισης του νευρικού σωλήνα, σοβαρές νευρολογικές διαταραχές και περιγεννητικό θάνατο⁴⁹.

Στο νεφρό η πλήρης απουσία της SHROOM3 (*Shroom3*^{-/-}) οδηγεί σε διαταραχή της νεφρογένεσης, εξαιτίας βράχυνσης και πάχυνσης των αθροιστικών σωληναρίων, ελάττωσης του αριθμού των σπειραμάτων, διαταραχών της μορφολογίας των ποδοκυττάρων και της αρχιτεκτονικής των ποδοειδών προσεκβολών (ΠΠ) και πλήρους αποδιοργάνωσης των σχισμοειδών διαφραγμάτων και των σχετιζόμενων με αυτά πρωτεϊνών (νεφρίνη, ποδοκίνη, συναπτοποδίνη). Ακόμα και σε ετεροζυγωτία (*Shroom3*^{+/-}) η έλλειψη αυτή οδηγεί σε πρώιμες και όψιμες νεφρικές βλάβες (σύντηξη ΠΠ, σπειραματοσκλήρυνση)⁵⁰. Η απώλεια της λειτουργικότητας του γονιδίου σε ενήλικα ποντίκια οδηγεί σε σύντηξη των ΠΠ και λευκωματινουρία, εξαιτίας της αδυναμίας σχηματισμού ελασματοποδίων (lamellipodia) στα ποδοκύτταρα⁵¹ που είναι απαραίτητα για τη δομική ακεραιότητά τους.

Αυτές οι παθογενετικές δράσεις αναδεικνύουν τον σημαντικό ρόλο της SHROOM3 στην ανάπτυξη και διατήρηση της αρχιτεκτονικής των ποδοκυττάρων μέσω των αλληλεπιδράσεων της με τον κυτταροσκελετό Ακτίνης τόσο στην κορυφαία ποδοκυτταρική επιφάνεια όσο και στο επίπεδο των ΠΠ και των ΣΔ. Συγκεκριμένα η SHROOM3 συμμετέχει στην ενεργοποίηση της ROCK (Rho-associated protein kinase) κινάσης η οποία με τη σειρά της φωσφορυλιώνει και ενεργοποιεί τη Μυοσίνη II και οδηγεί στον σχηματισμό ενός λειτουργικού δικτύου ακτίνης-μυοσίνης και στη σταθεροποίηση του κυτταροσκελετού ακτίνης στην κορυφαία ποδοκυτταρική περιοχή⁵⁰ (Εικόνα 5). Η απουσία της προκαλεί την αποδιοργάνωση του δικτύου αυτού και τη διαταραχή της ποδοκυτταρικής μορφολογίας και αρχιτεκτονικής με αποτέλεσμα την εμφάνιση σπειραματικής βλάβης (σκλήρυνση) και λευκωματινουρίας. Αντιθέτως, στο επίπεδο των ΣΔ φαίνεται πως σταθεροποιεί τη σύνδεση της νεφρίνης στα ΣΔ με το εν-



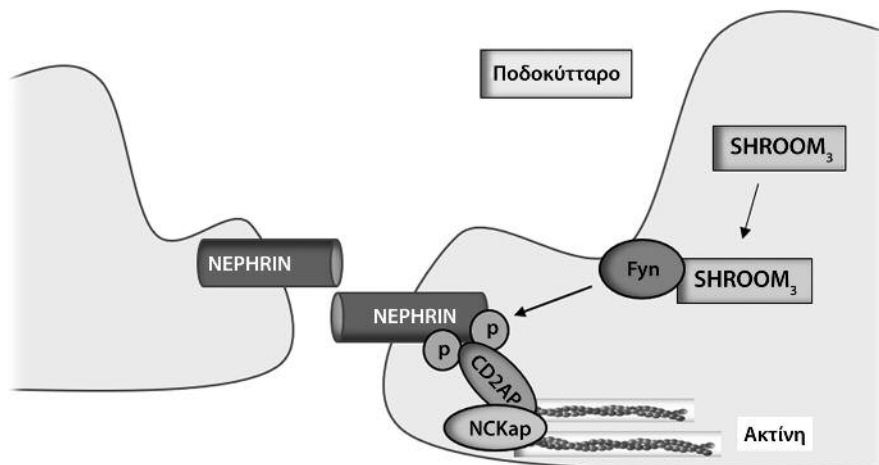
Εικόνα 5. Ο ρόλος της SHROOM3 στην κορυφαία επιφάνεια των ποδοκυττάρων.

δοκυττάριο δίκτυο του κυτταροσκελετού μέσω ενεργοποίησης της FYN κινάσης, φωσφορυλίωσης του ενδοκυττάρου άκρου της νεφρίνης στα σημεία σύνδεσης με την πρωτεΐνη προσαρμογέα NCKap, προαγωγής της σύνδεσης με τον NCKap και τελικά σταθεροποίησης της σύνδεσης νεφρίνης-κυτταροσκελετού⁵² (Εικόνα 6). Ενδέχεται οι πρώιμες και σοβαρές αναπτυξιακές επιπτώσεις της έλλειψης SHROOM3 να οφείλονται στην απουσία των αλληλεπιδράσεων της πρωτεΐνης με την ROCK και το δίκτυο ακτίνης της κορυφαίας επιφάνειας, ενώ οι όψιμες βλάβες σε κατάσταση ετεροζυγωτίας οφείλονται στη δυσχέρεια του μηχανισμού σταθεροποίησης της νεφρίνης των σχισμοειδών διαφραγμάτων μέσω της Fyn κινάσης⁵².

Τα τελευταία χρόνια αρκετές GWAS μελέτες αναγνώρισαν συσχετίσεις μεταξύ παραλλαγών του γονιδίου SHROOM3 και φαινοτυπικών χαρακτηριστικών που σχετίζονται με τη ΧΝΝ (eGFRcre, eGFRcys, UACR) (Πίνακας 2) επιβεβαιώνοντας ευρήματα από ζωικά πειραματικά μοντέλα, όπως το μοντέλο αρουραίου FHH (Fawn-Hooded Hypertensive), στο οποίο έχουν ταυτοποιηθεί γενετικές παραλλαγές του SHROOM3 γονιδίου (σε σχέση με τα Wild Type αλληλόμορφα) ως δυνητικά υπεύθυνες των πειραματικών βλαβών που παρουσιάζουν τα

μοντέλα αυτά. Μια από αυτές τις γενετικές παραλλαγές εντοπίζεται στο ASD1 πεδίο της SHROOM3 διαταράσσοντας τη σύνδεσή της με την ακτίνη, γεγονός που πυροδοτεί διαδικασίες ποδοκυτταρικής δυσλειτουργίας, ενώ χαρακτηριστικά η εισαγωγή wild-type SHROOM3 αλληλόμορφου στα FHH μοντέλα ελαττώνει σημαντικά τις πειραματικές βλάβες (σύνηξη ΠΠ, πειραματοσκλήρυνση και λευκωματινουρία)³⁷.

Τα πειράματα αυτά έδειξαν ότι υπόμορφες μεταλλάξεις της πρωτεΐνης SHROOM3 μπορεί να οδηγούν σε νεφρική βλάβη ή σε αυξημένη γενετική προδιάθεση ΧΝΝ στους ανθρώπους στο πλαίσιο άλλων μη γενετικών αιτιών χρόνιας νεφροπάθειας, όπως ο ΣΔ και η ΑΥ. Ένα από τα αλληλόμορφα κινδύνου που αναδείχθηκαν με τις GWAS μελέτες, το έλασσον A αλληλόμορφο με τον SNP rs17319721, φαίνεται πως σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο έκπτωσης του ΡΣΔ και εμφάνισης ΧΝΝ μέσω αυξημένης γονιδιακής έκφρασης του SHROOM3 στον διαμεσοσοληναριακό χώρο. Η αυξημένη του έκφραση επάγεται μέσω της ενίσχυσης σύνδεσης του μεταγραφικού συμπλόκου TCF7L2/ β-catenin με το γονίδιο, γεγονός που οδηγεί σε αυξημένη έκφραση του τελευταίου. Ο παράγοντας TCF7L2 αποτελεί καθοδικό μόριο του ενδοκυττάρου σηματοδοτικού μο-



Εικόνα 6. Ο ρόλος της SHROOM3 στο επίπεδο των Σχισιμοειδών Διαφραγμάτων.

νοπατιού Wnt/β-catenin μέσω του οποίου ρυθμίζεται η έκφραση πολλών γονιδίων μεταξύ των οποίων και του SHROOM3. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον εμφανίζει η αλληλεπίδραση του μονοπατιού αυτού με το ενδοκυττάριο σύστημα σηματοδότησης του TGF-β1 που αποτελεί κομβικό μόριο στις διαδικασίες της ίνωσης. Ο TGF-β1 αυξάνει την έκφραση του SHROOM3 μέσω του μονοπατιού Wnt/β-catenin, ενώ ταυτόχρονα η SHROOM3 φαίνεται πως διευκολύνει την ενδοκυττάρια σηματοδότηση του TGF-β1/ SMAD3 προάγοντας την έκφραση γονιδίων που συμμετέχουν στην ίνωση, όπως το COL1A1. Με τον τρόπο αυτό δημιουργείται ένα σύστημα θετικής ανατροφοδότησης που προάγει τη διαμεσοσωληναριακή ίνωση⁵³ (Εικόνα 7).

Πίνακας 2. SNPs του γονιδίου SHROOM3 που σχετίζονται με φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της νεφρικής λειτουργίας

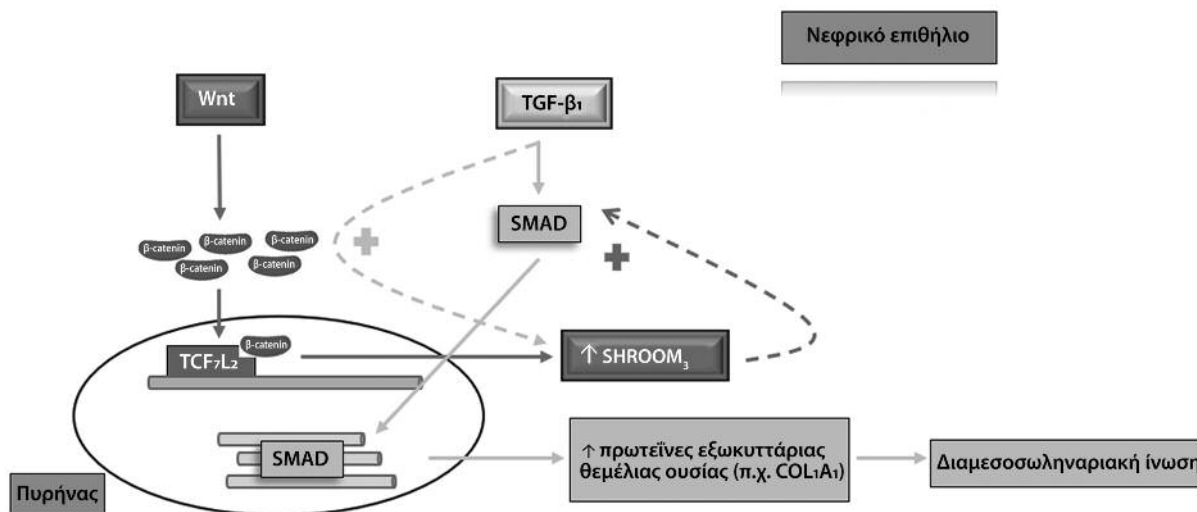
GWAS	SNP	Χαρακτηριστικό
Kottgen et al, 2009	rs17319721	eGFRcrea
Kottgen et al, 2010	rs17319721 rs4256249	eGFRcrea, eGFRcys eGFRcrea
Chambers et al, 2010	rs9992101	Κρεατινίνη πλάσματος
Meyer et al, 2010	rs13146355	eGFR μαγνήσιο
Patter et al, 2010	rs4859682	Κρεατινίνη πλάσματος
Boger et al, 2011	rs17319721	XNN
Ellis et al, 2012	rs17319721	UACR
Okada et al, 2012	rs13146355	EGFRcrea

Ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης το γεγονός πως το A αλληλόμορφο κινδύνου σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο έκπτωσης του ΡΣΔ και εμφάνισης ΧΝΝ, αλλά παραδόξως με χαμηλότερα επίπεδα λευκωματινουρίας (UACR)⁵⁴. Η αναντιστοιχία αυτή πιθανώς αντανακλά μια διαφορετική επίδραση των αυξημένων επιπέδων της πρωτεΐνης στο σπειραματικό και το διαμεσοσωληναριακό διαμέρισμα. Έτσι, ενώ στον διαμεσοσωληναριακό χώρο το A αλληλόμορφο φαίνεται να επιτείνει τις διαδικασίες νεφρικής ίνωσης μέσω αυξημένης έκφρασης του γονιδίου, στα ποδοκύτταρα αντιθέτως η υπερέκφραση της SHROOM3 φαίνεται να διατηρεί την ευεργετική της δράση στην οργάνωση του κυτταροσκελετού και στη φυσιολογική μορφολογία και λειτουργικότητα των ποδοκυττάρων και των σχισμοειδών διαφραγμάτων, ελαχιστοποιώντας τον κίνδυνο ποδοκυτταρικής βλάβης και εμφάνισης λευκωματινουρίας⁵².

3.3 Disabled-2/ DAB2

Ένα ακόμα γονίδιο που σχετίζεται με τη σωληναριακή λειτουργία και τον κίνδυνο ανάπτυξης διαμεσοσωληναριακής ίνωσης είναι το DAB2 γονίδιο, το οποίο αναδείχθηκε ως δυνητικά παθογόνο γονίδιο σχετιζόμενο με ΧΝΝ μέσω της αλληλεπίδρασης του με το ενδοκυττάριο μονοπάτι του TGF-β1³⁶.

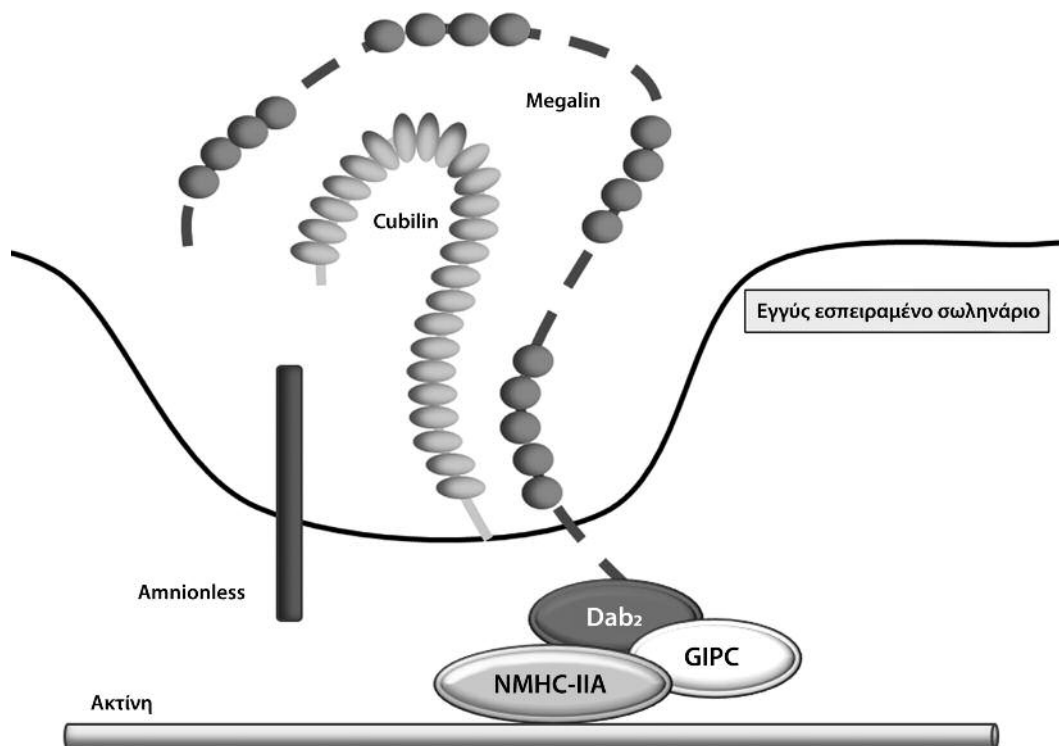
Η Dab2 είναι μια πρωτεΐνη προσαρμογέας (adaptor protein) που εμπλέκεται στην καρκινογένεση ως ογκοκατασταλτικός παράγοντας (tumor suppressor) καθώς και σε μια πληθώρα λειτουργιών όπως η ενδοκυττάρωση, η ενδοκυττάρια σηματοδότηση, η αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού, ο έλεγχος της κυτταρικής σύνδεσης κ.α⁵⁵. Δύο από αυτές τις λειτουργίες έχουν τεθεί στο επίκεντρο του



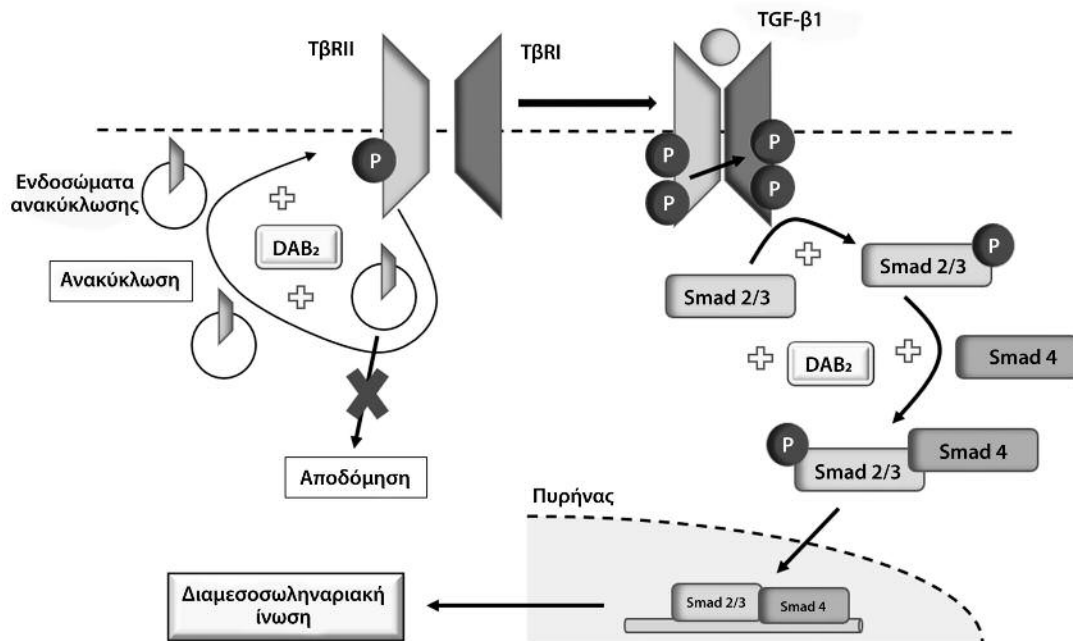
Εικόνα 7. Παθογενετικό μοντέλο νεφρικής βλάβης σχετιζόμενης με υψηλά επίπεδα έκφρασης του SHROOM3 γονιδίου.

ερευνητικού ενδιαφέροντος ως προς την συμμετοχή της Dab2 στην πρόκληση νεφρικής βλάβης: η εγγύς σωληναριακή επαναρόφηση πρωτεϊνών και άλλων ουσιών από το σύμπλοκο της Cubilin/Megalin/Amnionless, στην οποία η Dab2 διαμεσολαβεί τη σύνδεση του ενδοκυττάριου άκρου της megalin με τη βαριά αλυσίδα της μη μυϊκής μυοσίνης (non muscle myosin heavy chain IIA/NMHC-IIA) η οποία κωδι-

κοποιείται από το MYH9 γονίδιο (Εικόνα 8) και η εμπλοκή της Dab2 στη ρύθμιση της ενδοκυττάριας σηματοδότησης του TGF-β1. Η τελευταία περιλαμβάνει τόσο την αλληλεπίδραση της Dab2 με τους TGF-β υποδοχείς και τις πρωτεΐνες SMAD, όσο και την προαγωγή της διαμεσολαβούμενης από την κλαθρίνη ανακύκλωσης των υποδοχέων TβRII, προστατεύοντας τους από την αποδόμηση⁵⁶ (Εικόνα 9).



Εικόνα 8. Ο ρόλος της Dab2 στο σύμπλοκο Cubilin/Megalin/Amnionless και στις λειτουργίες ενδοκυττάρωσης του τελευταίου.



Εικόνα 9. Ο ρόλος της Dab2 στο σηματοδοτικό μονοπάτι TGF-β1/SMAD και στην πρόκληση διαμεσοσωληναριακής ίνωσης.

Η ελάττωση της γονιδιακής έκφρασης του *DAB2* σε πειραματόζωα τα προστατεύει από την πρόκληση νεφρικής βλάβης και την εγκατάσταση νεφρικής ίνωσης, πιθανώς μέσω της ελαττωμένης ενεργοποίησης του ενδοκυττάριου μονοπατιού του TGF-β1/ Smad2/3 και της ελαττωμένης έκφρασης προ-ινωτικών γονιδίων, όπως αυτά της ινονεκτίνης και του κολλαγόνου 1. Αντιθέτως, το αλληλόμορφο κινδύνου του *DAB2*, rs11959928, το οποίο έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο ΧΝΝ σε αρκετές GWAS μελέτες^{22,24} οδηγεί σε υψηλότερη έκφραση της πρωτεΐνης Dab2 στο εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο και πιθανώς σε αυξημένο κίνδυνο διαμεσοσωληναριακής ίνωσης, μέσω της ενεργοποίησης του ενδοκυττάριου μονοπατιού του TGF-β1³⁶.

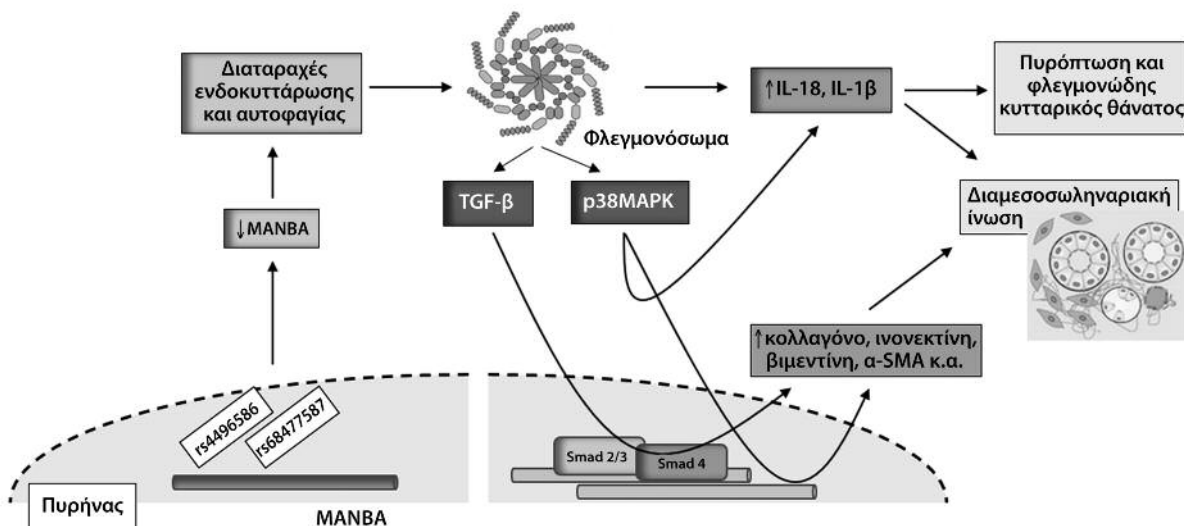
3.4 Mannosidase-beta/MANBA

Ο ρόλος των λυσοσωμάτων στους μηχανισμούς νεφρικής νόσου είναι καλά τεκμηριωμένος και υπάρχουν πλέον επαρκείς ενδείξεις πως η λυσοσωμική δυσλειτουργία στα νεφρικά σωληνάρια πυροδοτεί βλάβη στον διαμεσοσωληναριακό χώρο⁵⁷. Ένα από τα γονίδια που εμπλέκονται στη δομική και λειτουργική ακεραιότητα των λυσοσωμάτων και για το οποίο οι GWAS μελέτες κατέδειξαν συσχετίσεις παραλλαγών του με φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της ΧΝΝ είναι και το *MANBA*, το οποίο κω-

δικοποιεί τη β-μανοσιδάση στα λυσοσώματα. Το ένζυμο αυτό διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μεταβολική οδό αποδόμησης των πολυσακχαριτών. Παθολόγες παραλλαγές του γονιδίου του προκαλούν μια σπάνια αυτοσωμική υπολειπόμενη λυσοσωμική νόσο (lysosomal storage disorder) μέσω της πλήρους απουσίας της πρωτεΐνης MANBA, η οποία οδηγεί σε έναν σύνθετο κλινικό φαινότυπο με νευρολογικές, σκελετικές και αναπνευστικές εκδηλώσεις⁵⁸.

Από την άλλη πλευρά, συχνές μη κωδικές παραλλαγές στο χρωμόσωμα 4, στην περιοχή του *MANBA* γονιδίου, σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο ΧΝΝ και ελαττωμένη έκφραση *MANBA* στα νεφρικά σωληνάρια^{59,60}. Ασθενείς που φέρουν, σε κατάσταση ετεροζυγωτίας, μια σπάνια γενετική παραλλαγή του γονιδίου με απώλεια της λειτουργικότητας του (Loss-of Function *MANBA*) εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο ΧΝΝΤΣ⁶⁰, γεγονός συσχετίζει τα χαμηλά επίπεδα *MANBA* με τον κίνδυνο πρόκλησης νεφρικής βλάβης.

Ο παθογενετικός ρόλος των χαμηλών επιπέδων β-μανοσιδάσης στα νεφρικά σωληνάρια αναδειχτηκε σε πειραματικά μοντέλα οξείας νεφρικής βλάβης από φυλλικό οξύ και σισπλατίνη, στα οποία η έκλυση του νεφροτοξικού παράγοντα οδηγούσε σε μεγαλύτερο βαθμό διαμεσοσωληναριακής βλάβης και ίνωσης στα ποντίκια με ελαττωμένη έκφραση του



Εικόνα 10. Ο ρόλος του MANBA στους μηχανισμούς νεφρικής βλάβης.

γονιδίου ($Manba^{-/-}$ και $Manba^{+/-}$) σε σχέση με τα wild-type ποντίκια. Οι βλάβες αυτές διαμεσολαβούνται από διαταραχές της λυσοσωμικής λειτουργίας, οι οποίες με τη σειρά τους προκαλούν διαταραχές των μηχανισμών ενδοκυττάρωσης και αυτοφαγίας, ενεργοποίηση φλεγμονωδών διαδικασιών (φλεγμονόσωμα, πυρόπωση), αυξημένη παραγωγή ινωτικών παραγόντων και τελικά εγκατάσταση διαμεσοσωληναριακής ίνωσης⁶⁰ (Εικόνα 10). Παρόμοιες διαταραχές των λυσοσωμάτων παρατηρούνται και σε ασθενείς με ΧΝΝ που φέρουν αλληλόμορφα κινδύνου του *MANBA* γονιδίου (rs4496586 και rs6847587).

Συμπεράσματα

Η αποσαφήνιση των γενετικών παραγόντων που εμπλέκονται στην προδιάθεση ενός ατόμου να αναπτύξει νεφρική νόσο αποτελεί ένα κρίσιμο πεδίο της επιστημονικής έρευνας καθώς μεταξύ άλλων θα επιτρέψει την αποκάλυψη των υποκείμενων παθοφυσιολογικών μηχανισμών βλάβης και την ανάδυση καινούριων θεραπευτικών δυνατοτήτων. Παράλληλα θα προσφέρει δυνατότητες γενικότερου γενετικού ελέγχου (genetic screening) του πληθυσμού και πρόωμης εντόπισης των ατόμων που εμφανίζουν αυξημένη προδιάθεση για την εμφάνιση νόσου. Η κατανόηση των μηχανισμών νεφρικής βλάβης θα οδηγήσει στην καλύτερη κατηγοριοποίηση της ΧΝΝ και την ανάδειξη υποκατηγοριών ασθενών με ΧΝΝ. Με τον τρόπο αυτό οι κλινικές μελέτες, που μέχρι σή-

μερα διενεργούνται σε ανομοιογενείς πληθυσμούς χρόνιων νεφροπαθών, θα αποκτήσουν μεγαλύτερη στόχευση και θα καταφέρουν να αναδείξουν οφέλη εκεί όπου άλλοτε καταγράφονταν συστηματικά σημαντικά ποσοστά αποτυχίας⁶¹.

Η γενετική του νεφρού, εντασσόμενη στην νέα εποχή των genomics, proteomics και metabolomics, θα αποτελέσει τα επόμενα χρόνια ένα πεδίο έρευνας, διαγνωστικής και θεραπευτικής του νεφρού με σημαντικό αντίκτυπο στην ποιότητα της φροντίδας των ασθενών με ΧΝΝ. Η εξοικείωση της νεφρολογικής κοινότητας με τις μεθόδους και τα ερευνητικά πορίσματα της γενετικής θα επιτρέψει την ταχύτερη μετάβαση στη νέα εποχή δίνοντας παράλληλα τη δυνατότητα στους νεφρολόγους να χρησιμοποιούν στην καθημέρα κλινική πράξη καινούρια διαγνωστικά εργαλεία με πολλαπλά οφέλη τόσο για τον ασθενή όσο και για το σύστημα υγείας εν γένει.

Abstract

Genome-Wide Association Studies in nephrology.
A. Fountoglou, C. Deltas, A. Siomou, E. Dounousi.
Hellenic Nephrology 2023; 35 (1): 74-92.

Chronic Kidney Disease (CKD) is a major health problem with increasing epidemiological burden, being the 16th leading cause of years life lost worldwide. Nevertheless public awareness remains low, clinical access is inappropriate in many circumstances and therapeutics are still ineffective due to

the lack of clear therapeutic targets. One of the main problems that drives these defaults is the fact that CKD remains a clinical entity with significant causal ambiguity. Beyond Diabetes Mellitus and Hypertension that are considered to be the two major causes of kidney disease there are still many black holes in the diagnostic context of CKD. Genetics nowadays emerge as a promising field in nephrology. The role of genetic factors in CKD causes and predisposition is well documented and thousands of genetic variants are well established to contribute to the high burden of disease. Next Generation Sequencing (NGS) is increasingly revealing old and new rare variants that causes Mendelian forms of chronic nephropathy while Genome-Wide Association Studies (GWAS) uncover common variants associated with CKD-defining traits in the general population. In this article we review how GWAS has revolutionized – and continue to revolutionize- the old concept of chronic kidney disease and how common variants in genes with previous unknown kidney significance has begun to expand our knowledge on disease understanding, providing valuable insights into disease mechanisms.

Key words: *Chronic Kidney Disease, Genome – Wide Association Studies/GWAS, Genetic Kidney Diseases, Genetic variants*

Δήλωση σύγκρουσης συμφερόντων
Δεν αναφέρεται σύγκρουση συμφερόντων

Conflict of interest statement
None declared

Βιβλιογραφία

1. Freedman BI, Wilson CH, Spray BJ et al. Familial clustering of end-stage renal disease in blacks with lupus nephritis. *Am J Kidney Dis* 1997; 29: 729-32.
2. Freedman BI, Soucie JM, Stone SM, Pegram S. Familial clustering of end-stage renal disease in blacks with HIV-associated nephropathy. *Am J Kidney Dis* 1999; 34: 254-8.
3. Skrunes R, Svarstad E, Reisater AV, Vikse BE. Familial clustering of ESRD in the Norwegian population. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014; 9: 1692-1700.
4. Lei HH, Perneger TV, Klag MJ, Whelton PK, Coresh J. Familial aggregation of renal disease in a population-based case-control study. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1270-6.
5. O'Seaghdha CM, Fox CS. Genetics of chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract* 2011; 118: 55-63.
6. Placha G, Canani LH, Warram JH, Krolewski AS. Evidence for different susceptibility genes for proteinuria and ESRD in type 2 diabetes. *Adv Chronic Kidney Dis* 2005; 12: 155-69.
7. Wang G, Ouyang J, Li S et al. The analysis of risk factors for diabetic nephropathy progression and the construction of a prognostic database for chronic kidney diseases. *J Transl Med* 2019; 17: 264.
8. Piras D, Zoledziowska M, Cucca F, Pani A. Genome-Wide Analysis Studies and Chronic Kidney Disease. *Kidney Dis (Basel)* 2017; 3: 106-10.
9. Vivante A, Hildebrandt F. Exploring the genetic basis of early-onset chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 2016; 12: 133-46.
10. Torra R, Furlano M, Ortiz A, Ars E. Genetic kidney diseases as an underrecognized cause of chronic kidney disease: the key role of international registry reports. *Clin Kidney J* 2021; 14: 1879-85.
11. Wühl E, van Stralen KJ, Wanner C et al. Renal replacement therapy for rare diseases affecting the kidney: an analysis of the ERA-EDTA Registry. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29: 1-8.
12. Groopman EE, Marasa M, Cameron S, et al. Diagnostic Utility of Exome Sequencing for Kidney Disease. *N Engl J Med* 2019; 380: 142-51.
13. Devuyst O, Knoers NV, Remuzzi G, Schaefer F; Board of the Working Group for Inherited Kidney Diseases of the European Renal Association and European Dialysis and Transplant Association, (2014). Rare inherited kidney diseases: challenges, opportunities, and perspectives. *Lancet* 2014; 383: 1844-59.
14. Rasouly HM, Groopman EE, Heyman-Kantor R et al. The burden of candidate pathogenic variants for kidney and genitourinary disorders emerging from exome sequencing. *Ann Intern Med* 2019; 170: 11-21.
15. Olinger E, Schaeffer C, Kidd K et al. An intermediate-effect size variant in UMOD confers risk for chronic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci* 2022; 119: e2114734119.
16. Wutke M, Li Y, Li M et al (2019) A catalog of genetic loci associated with kidney function from analyses of a million individuals. *Nat Genet* 51: 957-72.
17. Zuk O, Hechter E, Sunyaev SR, Lander ES. The mystery of missing heritability: Genetic interactions create phantom heritability. *Proc Natl Acad Sci* 2012; 109: 1193-8.
18. Ameh OI, Okpechi IG, Dandara C, Kengne AP. Association Between Telomere Length, Chronic Kidney Disease, and Renal Traits: A Systematic Review. *OMICS* 2017; 21: 143-55.
19. Siomou E, Mitsioni AG, Giapros V, Bouba I, Noutsopoulos D, Georgiou I. Copy-number variation analysis in familial nonsyndromic congenital anomalies of the kidney and urinary tract: Evidence for the causative role of a transposable element-associated genomic rearrangement. *Mol Med Rep* 2017; 15: 3631-6.
20. Ptak C, Petronis A. Epigenetics and complex disease: from etiology to new therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2008; 48: 257-6.
21. Zhang X, Agborbesong E, Li X. The Role of Mitochondria in Acute Kidney Injury and Chronic Kidney Disease and Its Therapeutic Potential. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 11253.
22. Köttgen A, Glazer NL, Dehghan A et al. Multiple loci associated with indices of renal function and chronic kidney disease. *Nat Genet* 2009; 41: 712-7.
23. Köttgen A, Hwang SJ, Larson MG et al. Uromodulin levels associate with a common UMOD variant and risk for in-

- cident CKD. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 337-44.
24. *Köttgen A, Pataro C, Boger C et al.* New loci associated with kidney function and chronic kidney disease. *Nat Genet* 2010; 42: 376-84.
 25. *Chambers J, Zhang W, Lord G et al.* Genetic loci influencing kidney function and chronic kidney disease. *Nat Genet* 2010; 42: 373-5.
 26. *Gudbjartsson D, Holm H, Indridason O et al.* Association of Variants at UMOD with Chronic Kidney Disease and Kidney Stones—Role of Age and Comorbid Diseases. *PLoS Genet* 2010; 6: e1001039.
 27. *Pattaro C, Kottgen A, Teumer A et al.* Genome-wide association and functional follow-up reveals new loci for kidney function. *PLoS Genet* 2012; 8: e1002584.
 28. *Pattaro C, Teumer A, Gorski M et al.* Genetic associations at 53 loci highlight cell types and biological pathways relevant for kidney function. *Nat Commun.* 2016; 7: 10023.
 29. *Stanzick KJ, Li Y, Schlosser P et al.* Discovery and prioritization of variants and genes for kidney function in >1.2 million individuals. *Nat Commun* 2021; 12: 4350.
 30. *Tin A, Köttgen A.* Genome-Wide Association Studies of CKD and Related Traits. *Clin J Am Soc Nephrol* 2020; 15: 1643-56.
 31. *Böger C, Chen M, Tin A et al.* CUBN is a gene locus for albuminuria. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22: 555-70.
 32. *Wei C, Banu K, Garzon F et al.* SHROOM3-FYN Interaction Regulates Nephron Phosphorylation and Affects Albuminuria in Allografts. *J Am Soc Nephrol* 2018; 29: 2641-57.
 33. *Fox C, Yang Q, Guo C et al.* Genome-wide linkage analysis to urinary microalbuminuria in a community-based sample: The Framingham Heart Study. *Kidney Int* 2005; 67: 70-4.
 33. *Teumer A, Tin A, Sorice R et al.* Genome-wide association studies identify genetic loci associated with albuminuria in diabetes. *Diabetes* 2016; 65: 803-17.
 34. *Kramer H, Stilp A, Laurie C et al.* African ancestry-specific alleles and kidney disease risk in Hispanics/Latinos. *J. Am. Soc. Nephrol* 2017; 28: 915-22.
 35. *Haas M, Aragam K, Emdin C et al.* Genetic Association of Albuminuria with Cardiometabolic Disease and Blood Pressure. *Am J Hum Genet* 2018; 103: 461-73.
 36. *Qiu C, Huang S, Park J et al.* Renal compartment-specific genetic variation analyses identify new pathways in chronic kidney disease. *Nat Med* 2018; 24: 1721-31.
 37. *Yeo N, O'Meara C, Bonomo J et al.* Shroom3 contributes to the maintenance of the glomerular filtration barrier integrity. *Genome Res* 2015; 25: 57-65.
 38. *Winkler T, Rasheed H, Teumer A et al.* Differential and shared genetic effects on kidney function between diabetic and non-diabetic individuals. *Commun Biol* 2022; 5: 580.
 39. *Heerspink H, Stefánsson B, Correa-Rotter R et al.* DAPA-CKD Trial Committees and Investigators. Dapagliflozin in Patients with Chronic Kidney Disease. *N Engl J Med* 2020; 383: 1436-46.
 40. *Graham S, Nielsen J, Zawistowski M et al.* Sex-specific and pleiotropic effects underlying kidney function identified from GWAS meta-analysis. *Nat Commun* 2019; 10: 1847.
 41. *Price PM, Hirschhorn K, Salfirstein RL.* Chronic kidney disease and GWAS: “the proper study of mankind is man”. *Cell Metab* 2010; 11: 451-2.
 42. *Rodríguez-Iturbe B, García García G.* The role of tubulointerstitial inflammation in the progression of chronic renal failure. *Nephron Clin Pract* 2010; 116: 81-8.
 43. *Sheng X, Guan Y, Ma Z et al.* Mapping the genetic architecture of human traits to cell types in the kidney identifies mechanisms of disease and potential treatments. *Nat Genet* 2021; 53: 1322-33.
 44. *Trudu M, Janas S, Lanzani C et al.* Common noncoding UMOD gene variants induce salt-sensitive hypertension and kidney damage by increasing uromodulin expression. *Nat Med* 2013; 19: 1655-60.
 45. *Mutig K, Kahl T, Saritas T et al.* Activation of the bumetanide-sensitive Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ cotransporter (NKCC2) is facilitated by Tamm-Horsfall protein in a chloride-sensitive manner. *J Biol Chem* 2011; 286: 30200-10.
 46. *Ferrandi M, Cusi D, Molinari I et al.* alpha- and beta-Adrenocorticoid receptor polymorphisms affect podocyte proteins and proteinuria in rodents and decline of renal function in human IgA nephropathy. *J Mol Med* 2010; 88: 203-17.
 47. *Olden M, Corre T, Hayward C et al.* Common variants in UMOD associate with urinary uromodulin levels: a meta-analysis. *J Am Soc Nephrol* 2014; 25: 1869-82.
 48. *Wang J, Liu L, He K et al.* UMOD Polymorphisms Associated with Kidney Function, Serum Uromodulin and Risk of Mortality among Patients with Chronic Kidney Disease, Results from the C-STRIDE Study. *Genes (Basel)* 2021; 12: 1687.
 49. *Hildebrand JD, Soriano P.* Shroom, a PDZ domain-containing actin-binding protein, is required for neural tube morphogenesis in mice. *Cell* 1999; 99: 485-97.
 50. *Khalili H, Sull A, Sarin S et al.* Developmental Origins for Kidney Disease Due to Shroom3 Deficiency. *J Am Soc Nephrol* 2016; 27: 2965-73.
 51. *Matsuura R, Hiraishi A, Holzman L et al.* SHROOM3, the gene associated with chronic kidney disease, affects the podocyte structure. *Sci Rep* 2020; 10: 21103.
 52. *Wei C, Banu K, Garzon F et al.* SHROOM3-FYN Interaction Regulates Nephron Phosphorylation and Affects Albuminuria in Allografts. *J Am Soc Nephrol* 2018; 29: 2641-57.
 53. *Menon M, Chuang P, Li Z et al.* Intronic locus determines SHROOM3 expression and potentiates renal allograft fibrosis. *J Clin Invest* 2015; 125: 208-21.
 54. *Ellis J, Chen M, Foster M et al.* Validated SNPs for eGFR and their associations with albuminuria. *Hum Mol Genet* 2012; 21: 3293-8.
 55. *Finkielstein CV, Capelluto DG.* Disabled-2: A modular scaffold protein with multifaceted functions in signaling. *Bioessays* 2016; 38: S45-55.
 56. *Hocevar B, Smine A, Xu X, Howe P.* The adaptor molecule Disabled-2 links the transforming growth factor beta receptors to the Smad pathway. *EMBO J* 2001; 20: 2789-801.
 57. *Surendran K, Vitiello S, Pearce D.* Lysosome dysfunction in the pathogenesis of kidney diseases. *Pediatr Nephrol* 2014; 29: 2253-61.
 58. *Sabourdy F, Labauge P, Stensland H et al.* A MANBA mutation resulting in residual beta-mannosidase activity

- associated with severe leukoencephalopathy: a possible pseudodeficiency variant. *BMC Med Genet* 2009; 10: 84.
59. *Kim H, Jin H, Eom Y.* Association between MANBA Gene Variants and Chronic Kidney Disease in a Korean Population. *J Clin Med* 2021; 10: 2255.
60. *Gu X, Yang H, Sheng X et al.* Kidney disease genetic risk variants alter lysosomal beta-mannosidase (MANBA) expression and disease severity. *Sci Transl Med* 2021; 13: eaaz1458.
61. *Levin A, Lancashire W, Fassett R.* Targets, trends, excesses, and deficiencies: refocusing clinical investigation to improve patient outcomes. *Kidney Int* 2013; 83: 1001-9.

* Παρελήφθη στις 30/1/2023

Έγινε αποδεκτή μετά από τροποποιήσεις στις 25/2/2023

* Received for publication 30/1/2023

Accepted in revised form 25/2/2023

Αλληλογραφία

A. Φούντογλου

Νεφρολόγος

Τηλ.: 6981247247

E-mail: fountoglou@gmail.com