

Kaufman JS. Antithrombotic agents and the prevention of access thrombosis. *Semin Dial* 2000;13:40–46.

Pisoni RL, Gillespie BW, Dickinson DM, et al. The Dialysis Outcomes nad Practice Patterns Study (DOPPS): Design, data elements, and methodology. *Am J Kidney Dis* 2004;44(Suppl 2):S7–15.

Young EW, Goodkin DA, Mapes DL, et al. The Dialysis Outcomes nad Practice Patterns Study (DOPPS): an international hemodialysis study. *Kidney Int* 2000; Suppl 74:S74–81.

Molekulárně genetická diagnostika X-vázané formy Alportova syndromu

Tazón-Vega B, Ars E, Bursat M, Santin S, Ruiz P, Fernández-Llama P, Ballarín J, Torra R. Genetic testing for X-linked Alport syndrome by direct sequencing of COL4A5 cDNA from hair root RNA samples. *Am J Kidney Dis* 2007; 2:518–526.

Alportův syndrom (AS) je geneticky heterogenní dědičné onemocnění ledvin, v 80–85 % případů je způsobeno mutacemi genu COL4A5 na chromosomu X (XLAS). Mutace v genech COL4A3 a COL4A4 na 2. chromosomu jsou zodpovědné za zbylé případy AS syndromu přenášeného autosomálně recesivně nebo autosomálně dominantně.

Molekulárně genetické metody mají v diagnostice XLAS stále větší význam. U pacientů s pozitivní rodinnou anamnézou se provádí nejdříve vazebná analýza. V této práci byly stanoveny nové mikrosatelitní markery, u nichž je minimální možnost rekombinace (1,2 %), a proto se mohou využít i v prenatalní diagnostice. Tuto metodu nepřímé diagnostiky XLAS však není možné uplatnit u malých rodin a u sporadických případů onemocnění. Pacienti s negativní rodinnou anamnézou tvoří 12 % pacientů s mutacemi genu COL4A5. Přímá detekce mutací z DNA z periferní krve je velmi drahá a náročná metoda, protože jde o velmi rozsáhlý gen (51 exonů). Senzitivita detekčních metod je 30–70 %. Je popsáno asi 300 různých mutací v genu COL4A5.

Mutační analýza v této práci byla prováděna z mRNA. Gen COL4A5 je exprimován v ledvinách, oku, uchu, kůži, ale není exprimován v periferních lymfocytech. Již dříve byla zkoušena mutační analýza RNA z fibroblastů kůže. Tato metoda je ale laboratorně velmi náročná, kultivace fibroblastů trvá tři až čtyři týdny. Proto byla zavedena metoda izolace mRNA z vlasových kořínků, následovaná reverzní transkripcí do cDNA a poté přímá sekvenace pouze deseti překrývajících se úseků cDNA. Záchytnost touto levnější a relativně rychlejší detekční metodou byla 77 % u mužů a 71 % u žen. Touto technikou není možné zachytit rozsáhlé delece genu u heterozygotních žen (sekvenuje se pouze normální X chromosom). Některé transkripty nesoucí nonsense mutaci podléhají specifické degradaci, proto jejich záchyt z RNA může být snížen. Na druhou stranu je to velmi výhodná metoda na záchyt významných střihových mutací (mutací, které se projeví na úrovni RNA).

V této studii byly nalezeny střihové mutace ve 41 % případů, zatímco v databázi mutací COL4A5 (Human Gene Mutation Databáze) pouze v 17 % případů. Mutační analýzou DNA by polovina střihových mutací v tomto souboru nebyla zastížena.

Tato práce navrhuje jednoduchou (10 překrývajících se fragmentů), rychlou (výsledky do týdne) a výkonnou (více než 70% záchytnost mutací) metodu detekce mutací u pacientů s XLAS. Tato metoda je použitelná i u malých rodokmenů a sporadických případů.

■ KOMENTÁŘ MUDr. Jana Reiterová, Ph.D.

Alportův syndrom je systémové onemocnění, které se projevuje postižením ledvin (mikroskopickou hematurii v dětství, občas s epizodami makrosko-

pické hematurie), rozvojem proteinurie (často až nefrotickým syndromem v druhém decenniu) a následně postupnou progresí renální insuficience.

Typickým nálezem ve vzorku z renální biopsie je ztenčení a následně rozvoláknění glomerulárních bazálních membrán zjištěné až vyšetřením v elektronovém mikroskopu. Prevalence onemocnění je 1 : 5 000 a pacienti s AS tvoří 1–2 % pacientů v dialyzačním programu. Až u 80 % pacientů s AS je přítomna oboustranná porucha sluchu (často hluchota). U 40 % pacientů jsou udávány oční abnormality (specifická makulopatie a přední lenticonus vedoucí k recidivujícím erozím rohovek).

Diagnóza XLAS je založena na pozitivní rodinné anamnéze. U 10–15 % dětí s XLAS vznikají však mutace de novo (Jais et al., 2000). U pacientů s glomerulární erythrocyturií by měli být vyšetřeni vždy obě rodiče a sourozenci. Avšak asi 5 % přenašeček XLAS nemá hematurii (Jais et al., 2003). Pacienti s hematurii, suspektní rodinnou anamnézou (stran hematurie a event. renálního selhání) nebo pacienti současně s oboustrannou poruchou sluchu by měli podstoupit kožní a event. renální biopsii. Ale ani normální imunohistochemický náleze z renální a kožní biopsie nemůže jednoznačně diagnózu AS vyloučit.

Molekulárně genetická analýza AS není v České republice dostupná. O tuto diagnostiku projevují zájem především přenašečky formy XLAS. U těchto žen nebývá průběh onemocnění tak benigní, jak se dříve myslelo. Až třetina žen s XLAS po 60. roce věku dospěje do stadia selhání ledvin. K renální insuficienci dojde asi u 28 % patientek mezi 19–30 roky, u 31 % mezi 31–40 roky a po 41. roce u 41 % (Jais et al., 2003). Těžší průběhu onemocnění u heterozygotních patientek závisí na procentu inaktivace postiženého chromosomu X (Wang et al., 2006) a na typu mutace v genu COL4A5. Podobně jako u mužů jsou rozsáhlé genové přestavby (především velké delece) a nonsense mutace vedoucí ke krátkému proteinu spojeny s těžším průběhem onemocnění. Byla zjištěna až 90% pravděpodobnost renálního selhání do 30 let věku u postižených mužů s rozsáhlými delecemi a nonsense mutacemi v genu COL4A5. Naopak u pacientů s missense mutacemi nebo střihovými mutacemi je tato pravděpodobnost pouze 50% (Jais et al., 2000). Byla popsána i missense mutace v nekolažinní doméně, kdy docházelo k renálnímu selhání u mužů až po 60. roku věku a nebyla přítomna porucha sluchu v rodině (Wilson et al., 2007).

Přenašečky XLAS mají vzhledem k závažnému klinickému průběhu tohoto onemocnění velmi často zájem o prenatalní, event. preimplantační diagnostiku XLAS u mužských potomků. Zjištění určité mutace v rodině umožní těmto ženám nejen volbu pohlaví plodu (mnohé volí raději přerušeni těhotenství v případě zjištění mužského pohlaví plodu), ale i možnost zjištění, zda mužské embryo při preimplantační diagnostice nebo plod mužského pohlaví při prenatalní diagnostice je či není nositelem mutace v genu COL4A5.

Literatura

Jais JP, Knebelmann B, Giatras I, et al. X-linked Alport syndrome: natural history in 195 families and genotype-phenotype correlations in males. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:649–657.

Jais JP, Knebelmann B, Giatras I, et al. X-linked Alport syndrome: natural history and genotype-phenotype correlations in girls and women belonging to 195 families. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:2603–2610.

Wang Y, Zhang H, Ding J, et al. Correlation between mRNA expression level of the mutant COL4A5 gene and phenotypes of XLAS females. *Exp Biol Med* 2007;232:638–642.

Wilson JC, Yoon HS, Walker RJ, Eccles MR. A novel Cys1638Tyr NC1 domain substitution in alpha5(IV) collagen causes Alport syndrome with late onset renal failure without hearing loss or eye abnormalities. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:1338–1346.

Chronická peritoneální dialýza

Mebrotra R, Kermah D, Fried L, Kalantar-Zadeh K, Khawar O, Norris K and Nissenson A. Chronic peritoneal dialysis in the United States: declining utilisation despite improving outcomes. J Am Soc Nephrol 2007;18:2781–2788.

V roce 2004 bylo v USA léčeno chronickou dialyzační léčbou téměř 336 000 pacientů, což představovalo náklady v hodno-