

Steroid-rezistentních případů nefrotického syndromu způsobených mutacemi v jednom genu je 29,5 %

Sadowski EC, Lovric S, Ashraf S, Pabst WL, Gee HY, Kohl S, Engelmann S, Vega-Warner, Fang H, Halbritter J, Sommers JM, Tan W, et al., the SRNS Study Group and Hildebrandt F. A single-gene cause in 29.5% of cases of steroid-resistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2014 Oct 27. pii: ASN.2014050489. [Epub ahead of print]

Idiopatický nefrotický syndrom (INS) zahrnující primární fokálně segmentární glomerulosklerózu (FSGS), minimální změny glomerulů (MCD) a u dětí difúzní mesangiální sklerózu (DMS) jsou druhou nejčastější příčinou chronického selhání ledvin v prvních dvou dekádách života. Do současnosti bylo identifikováno 27 genů s autosomálně recesivní nebo autosomálně dominantní dědičností, které mohou INS způsobovat.

Šlo o mezinárodní studii, kdy v letech 2003–2013 byla po podepsání informovaného souhlasu izolována DNA z krve 2 016

pacientů (1 783 rodin) se steroid-rezistentním nefrotickým syndromem (SRNS). Průměrný věk rozvoje nefrotického syndromu byl 41 měsíců (3,4 roku), v rozpětí 0–63 let. Nejvíce pacientů bylo z Evropy (457 z Německa), ale v souboru bylo zastoupeno i 127 rodin z Indie, 24 rodin z Austrálie, 32 asijských rodin a 16 rodin z Jižní Ameriky. Kontrolní skupina byla tvořena 185 dětmi se steroid-senzitivním nefrotickým syndromem (SSNS). Byla provedena mutační analýza 27 genů, nejprve klasickým sekvenováním a následně po multiplexové PCR (za použití 612 párů primerů k pokrytí 512 kódujících exonů) méně nákladným a rychlejším NGS (new generation sequencing). Panel genů obsahoval 21 genů přenášených autosomálně recesivně (*NPHS2*, *NPHS1*, *PLCE1*, *LAMB2*, *SMARCAL1*, *COQ6*, *ITGA3*, *MYO1E*, *COQ2*, *CUBN*, *ADCK4*, *DGKE*, *PDSS2*, *ARHGDI1*, *CD2AP*, *CFH*, *ITGB4*, *NEIL1*, *PTPRO/GLEPP1*, *SCARB2*, *MEFV*) a šest genů s autosomálně dominantním typem dědičnosti (*WT1*, *INF2*, *TRPC6*, *ARHGAP24*, *ACTN4*, *LMX1B*).

Klasickým sekvenováním byla zachycena mutace v 392 rodinách, při NGS v dalších 134 rodinách, což bylo celkem 526 rodin s nalezenou mutací z 1 783 rodin (29,5 %). Mutace byly zjištěny v 21 genech z 27 vyšetřovaných genů, 129 bylo nových mutací. Žádné mutace nebyly nalezeny v genech *MEFV*, *CD2AP*, *NEIL1*, *PTPRO*, *SCARB2* a *ACTN4*. V kontrolní SSNS skupině nebyla nalezena žádná kauzální mutace ve vyšetřovaných genech.

Byla zjištěna negativní korelace mezi věkem nástupu proteinurie a procentem identifikovaných mutací. U nástupu NS do jednoho roku byla zjištěna mutace u 61,3 % dětí, mezi 2. a 5. rokem u 25 %, mezi 7. a 12. rokem u 17 % a po 12. roce u 10 % dětí. U mladých dospělých 19–25 let bylo dokonce vyšší procento záchytu mutací (21,4 %) než u adolescentů.

Mutace v genech autosomálně recesivních forem INS se manifestují v časném dětství. U SRNS během prvních tří měsíců je ve 40 % mutovaný gen *NPHS1*, v 10,6 % gen *NPHS2*, v 8,5 % gen *WT1* a v 5,5 % gen *LAMB2*. U pacientů se SRNS v dětství (1–18 let) je nejčastěji mutovaný gen *NPHS2* (5,7–12,7 %). Mutace v genu *WT1* mají i druhý vrchol výskytu, kdy byly nalezeny i po 18. roce věku. Geny, které se účastní biosyntézy koenzymu Q10, byly mutovány u 1 % SRNS. Záchyt mutací v genech pro SRNS přenášených autosomálně recesivně byl nejvyšší v zemích s vysokým procentem příbuzenských sňatků (až 71,4 % v Saúdské Arábii).

Dalším zajímavým zjištěním byly korelace genotypu a fenotypu. U mutací *PLCE1* byl významně časnější nástup NS u stříhových mutací ve srovnání s mutacemi vedoucími ke kratšímu proteinu na C-konci a záměnnými mutacemi. U genu *NPHS1* nebyla žádná korelace s nástupem NS a genotypem. U genu *LAMB2* byly mutace na začátku proteinu (N-konci) spojeny s velmi časným nástupem NS (před druhým měsícem). U mutací genu *NPHS2* v Evropě byl časnější nástup NS (v průměru v 17 měsících) u záměny Arg138Gln ve srovnání s mutovanými alelami Leu312Val (96 měsíců) a Val180Met (97,5 měsíce). Častá polymorfní alela Arg229Gln vede k INS pouze ve spojení s kauzální mutací na druhé alele genu a je spojena s pozdějším nástupem proteinurie.

Zjištění mutací u pacientů s INS vede ke snížení podání kortikoidů a další imunosuprese, naopak tyto pacienti jen výjimečně relabují po transplantaci štěpu. Pacienti s mutacemi genů uplatňujícími se v biosyntéze Q10 mohou být koenzymem léčeni, pacienti s mutacemi v genu *CUBN* mohou být léčeni vitamínem B₁₂. U pacientů bez nalezené mutace NGS je možné hledat nové zodpovědné geny celogenomovým sekvenováním nebo hledat nové patogenetické faktory INS u přesněji definované skupiny pacientů.

■ KOMENTÁŘ

Doc. MUDr. Jana Reiterová, Ph.D.

Primární FSGS je příčinou nefrotického syndromu u více než 20 % mladých pacientů. Pro pacienty se steroid-rezistentním INS je často obtížné najít účinnou léčbu, rekurence po transplantaci ledviny je vysoká (11–50 %). Pokud pacienti nereagují na léčbu kortikoidy ani jinými imunosupresivy, dochází asi u 50 % během 8–10 let k selhání ledvin. Pacienti s jednoznačně genetickými formami INS jsou na imunosupresivní terapii většinou rezistentní. Riziko rekurence po transplantaci je u pacientů s genetickými formami onemocnění výrazně nižší.

Zatím byla většinou prováděna mutační analýza sedmi genů (NPHS1, NPHS2, ACTN4, TRPC6, CD2AP, PLCE1, IFN2) účastnících se nejčastěji v patogenezi FSGS/MCD. Výskyt nalezených mutací dle věku byl podobný jako v popsané studii. V této studii bylo u velkého, dobře definovaného souboru pacientů analyzováno 27 genů. Metoda NGS umožňuje analýzu velkého množství genů najednou relativně rychle (během týdnů) a levněji než klasické Sangerovo sekvencování. V této studii byl záchyt kauzálních mutací u pacientů se SRNS mladších 25 let téměř 30 %.

Byli analyzováni pacienti různých ras a byly nalezeny tzv. zakladatelské mutace pro různé oblasti na světě, které jsou zde pak i nejčastější, což může urychlit mutační analýzu. Byla poprvé nalezena korelace mezi genotypem a fenotypem u mutací v genech PLCE1 a LAMB2. U genu NPHS2 byly popsány některé patogenní alely, které jsou spojeny s pozdějším nebo časnějším nástupem SRNS.

Co se týče terapeutického dopadu, pokud je jednoznačně zjištěna genetická příčina INS, je dobré minimalizovat imunosupresivní terapii. U všech pacientů s autosomálně recesivní formou INS byly dobře definovány jednoznačně kauzální mutace na obou alelách zodpovědných genů v poloze trans. Mutace musely vést ke kratšímu proteinu, záměnné mutace musely být buď popsány v databázi mutací, nebo vysoce konzervovány mezidruhově a vyhovět alespoň dvěma ze tří testů kauzality. Výjimkou je alela Arg229Gln, což je polymorfní alela přítomná až u 10 % české populace. Jedna alela, i pokud má pacient dvě tyto alely, nevede k nefrotickému syndromu. Pokud je však Arg229Gln v kombinaci s jinou kauzálně změněnou alelou v pozici trans, je příčinou SRNS s pozdním nástupem. Pozici trans zjistíme jedině vyšetřením DNA rodičů. Pokud je u pacientů nalezena u autosomálně recesivních forem mutace SRNS pouze na jedné alele, není možné předpovídat odpověď ani na imunosupresivní terapii, ani na transplantaci štěpu (Jungraithmayr et al., 2011).

Geny, které se účastní biosyntézy koenzymu Q10 (COQ2, COQ6, PDSS2, ADCK4), byly mutovány u 1 % SRNS. Tito pacienti by mohli být indikováni k léčbě koenzymem Q10. Dva pacienti s mutacemi PLCE1 odpověděli na léčbu kortikosteroidy a ciclosporinem (Hinkes et al., 2006).

Mutace v genech s autosomálně dominantním INS se většinou manifestují proteinurií často až v adolescenci nebo u mladých dospělých. V této studii nebyla překvapivě nalezena žádná mutace v genu ACTN4 na rozdíl od dřívějších studií. Nejčastěji v devíti rodinách byly popsány mutace v INF2 (invertovaný formin), což je ve shodě s dřívějšími publikacemi, kdy mutace INF2 jsou u dospělých s autosomálně dominantní INS nejčastější (Barua et al., 2013). Sporný je terapeutický přínos zjištění autosomálně dominantních forem. Vzhledem k tomu, že se častěji projevují střední proteinurií a pomalou progresí renální insuficience, nejsou pacienti často léčeni imunosupresí. U popsáných případů zatím nedocházelo k rekurenci po transplantaci.

Nyní je v České republice dostupná mutační analýza genu NPHS2 a WT1 (u pacientů s nástupem SRNS v dětství), u pacientů s pozitivní rodinnou anamnézou ukazující na autosomálně dominantní dědičnost je možné vyšetřit mutace genu ACTN4, TRPC6 a INF2.

Literatura

Barua M, Brown EJ, Charoonratana VT, et al. Mutations in the INF2 gene account for a significant proportion of familial but not sporadic focal and segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 2013;83:316–322.

Hinkes B, Wiggins RC, Gbadegesin R, et al. Positional cloning uncovers mutations in PLCE1 responsible for a nephrotic syndrome variant that may be reversible. *Nat Genet* 2006;38:1397–1405.

Jungraithmayr TC, Hofer K, Cochat P, et al. Screening for NPHS2 mutations may help predict FSGS recurrence after transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2011;22:579–585.