

Komplexní genetická diagnostika glomerulopatií a cystických chorob využívající panel genů dědičných chorob ledvin

Bullich G, Domino-Gallego A, Vargas I, et al. A kidney-disease gene panel allows a comprehensive genetic diagnosis of cystic and glomerular inherited kidney diseases.

Kidney Int 2018;94:363–371.

Vrozené a dědičné choroby ledvin jsou nejčastější příčinou chronického selhání ledvin u dětí. Asi u 10 % dospělých pacientů dochází k selhání ledvin na genetickém podkladě. Kromě nejčastější autozomálně dominantní polycystické choroby ledvin (ADPKD) a Alportova syndromu se s identifikací nových genů rozrůstá počet vzácnějších cystických onemocnění ledvin a jater, ale i geneticky podmíněných glomerulopatií, jako je například široká skupina fokálně segmentárních glomeruloskleróz (FSGS) a C3 nefropatií.

V této španělské studii bylo analyzováno 140 genů zodpovědných za cystické postižení ledvin (100 genů) a za glomerulopatie (40 genů) u 421 pacientů. Celkem 116 pacientů již mělo nalezenou mutaci a sloužili jako kontroly. U 305 pacientů bylo suspektní cystické onemocnění ledvin, u 98 pacientů glomerulopatie. Pacienti s cystickými onemocněními byli rozděleni dle věku zjištění cyst na ultrazvuku na nemocné s prenatálními formami, s dětskými a dospělými formami (po 18. roce). Pacienti se suspektními hereditárními nefropatiemi byli rozděleni dle manifestace nefrotického syndromu a/nebo se smíšeným močovým nálezem na kongenitální (od narození do tří měsíců), pediatrické a dospělé formy. V renální biopsii měli vybraní pacienti FSGS a/nebo ultrastrukturální abnormality v elektronovém mikroskopu kompatibilní s Alportovým syndromem. Z molekulárně genetických metod bylo využito sekvenování nové generace (NGS). Cílem studie bylo zjištění genetických variant u cystických onemocnění ledvin a glomerulopatií efektivní metodou, určení distribuce těchto chorob a v neposlední řadě stanovení genetických změn u pacientů s nejednoznačným fenotypem choroby.

Kauzální mutace byly nalezeny u 78 % pacientů s cystickými chorobami, 44 % pacientů mělo pozitivní rodinnou

anamnézu. U pacientů s prenatální formou se nejčastěji jednalo o ARPKD (autozomálně recesivní polycystickou chorobu ledvin) (42 %), nefronoftízu (19 %), mutaci *HNF1β* (16 %) a u 3 % o ADPKD. U dětských forem bylo rozložení obdobné. U dospělých se jednalo nejčastěji o ADPKD (67 %). Byla zjištěna ale i mírná forma ARPKD, orofacioidigitální syndrom a mutace v genu *PRKSCH* (AD polycystická choroba jater). U pacientů s glomerulopatií byly nalezeny mutace u 62 %, 81 % z nemocných mělo pozitivní rodinnou anamnézu. U kongenitálních forem byly nejčastěji zjištěny mutace v genu *NPHS1* (pro nefrin) a v genu *WT1*. U dětských pacientů tvořili polovinu pacienti s X-vázanou formou Alportova syndromu a dále u 8 % byly doloženy mutace v genech pro steroid rezistentní nefrotický syndrom (nejčastěji mutovaný gen *NPHS2* pro podocin). Byly ale nalezeny i mutace v genech pro nail-patella syndrom (*LMX1B*), ve vývojovém genu *PAX2* a v genu *COL4A1*. U dospělých pacientů se nejčastěji jednalo o pacienty s různými formami Alportova syndromu. Mutace v genu *PAX2* se našla i u dospělé pacientky s glomerulopatií, jejíž syn měl malé cysty a klinicky suspektní nefronoftízu. Byly odhaleny i mozaiky v genech *TSC* u pacientů s tuberózní sklerózou.

Detekce mutací byla vysoká – 78 % u pacientů s cystickým postižením ledvin a 62 % u pacientů s glomerulopatiemi. Panel genů dědičných chorob ledvin může přispět k definitivnímu stanovení diagnóz především u nejednoznačných fenotypů. Studie dále ukázala distribuci dědičných cystických onemocnění ledvin a glomerulopatií v různých věkových skupinách. U některých pacientů se definitivní diagnóza lišila od původní suspektní klinické diagnózy.

KOMENTÁŘ

Doc. MUDr. Jana Reiterová, Ph.D.

V posledních letech neustále roste počet nových identifikovaných genů, které jsou buď zodpovědné za vzácná onemocnění ledvin, nebo často rozdělí některé choroby na více jednotek podle mutovaného genu. Analýza panelu velkého počtu vybraných genů pro určité skupiny onemocnění byla umožněna molekulárně genetickou metodou NGS (next generation sequencing, sekvenční metody nové generace). Jedná se o metodu relativně rychlou a relativně levnější, která umožňuje zjištění i CNV (copy number variants, variabilita počtu kopií segmentů DNA). Nevýhodou panelu genů je, že pokud se odhalí další možný zodpovědný gen, nelze ho již na definovaný panel přidat. V případech, kdy se mutace na panelu genu nezjistí, je výhodnější celoxomové sekvenování, které je však dražší a CNV neodhalí.¹ Nejobtížnější je interpretace výsledků, protože často je zjištěna řada záměn, u kterých je někdy velmi obtížné se vyjádřit o jejich kauzalitě. Také změny v oblasti intronů jsou náročné na ověření.

U cystických chorob ledvin se v dospělosti jedná nejčastěji o autozomálně dominantní polycystickou chorobu ledvin (ADPKD), která se jednoznačně diagnostikuje ultrazvukem. Jsou ale i výjimečné případy, kde není jednoznačný nálezn na ultrazvuku ledvin, často je zjištěna i cystóza jater. Klinický průběh stran renálního selhání bývá spíše mírnější a je nutno pomyslet na mutace v genech pro autozomálně dominantní polycystózu jater s mírnějším renálním fenotypem (gen PRKCSH, SEC6 a GANAB). Metodou NGS je možné analyzovat velké množství genů najednou, a to i složitých genů, jako je právě gen PKD1. U rodin s variabilním klinickým průběhem renálních onemocnění umožní u pacientů s výrazně těžším průběhem onemocnění, často s časným renálním selháním, odhalit komplexní genetické pozadí. Nejčastěji se jedná o mutace ve více genech najednou, často o záměnnou mutaci v genu zděděném od zdravého rodiče, u kterého se pak potvrdí pouze ojedinelé cysty.

Pokud se zjistí těžká polycystóza ledvin již na ultrazvuku v době okolo 20. týdne těhotenství, jedná se nejčastěji o ARPKD,

ale příčinou mohou být u mutace v genu pro HNF1 β , různé formy nefronoftiz i vzácné syndromy často doprovázené dalšími vývojovými anomáliemi. V těchto nejtěžších případech je důležité zjistit mutace v určitých genech, které jsou zodpovědné za tato onemocnění, aby mohla být v dalších těhotenstvích provedena prenatální nebo preimplantační diagnostika a eventuálně těhotenství časně přerušeno.

U těžkých prenatálních a dětských forem jsou častěji zachycovány i mutace v genech zodpovědných za nefronoftizu (již 20 genů). Jedná se o autozomálně recesivní onemocnění, ale někdy jsou nacházeny kombinace mutací na různých genech pro toto onemocnění, takže se předpokládá, že i tyto dialektické mutace mohou vést k těžkým fenotypům podobně jako u autozomálně recesivního Alportova syndromu.²

Stran glomerulopatií byly nejčastěji u kongenitálních forem nalezeny mutace v genu NPHS1 a WT1, u pediatrických forem v genu NPHS2 se steroid rezistentním nefrotickým syndromem a v genu COL4A5 u pacientů s Alportovým syndromem/smíšeným náleznem v moči. I u dospělých pacientů je někdy obtížné jednoznačně rozlišit FSGS a Alportův syndrom. I u FSGS mohou být přítomny heterozygotní mutace v genu COL4A3 a A4, dále mutace v genech pro podocin, formin a další oblasti podocytů, ale i gen LMX1B zodpovědný za nail-patella syndrom. Rovněž geny, které se účastní vývoje ledvin, byly mutované, jako např. gen PAX2 u pacienta s glomerulopatií. Takže obdobný nálezn, nejčastěji FSGS, v renální biopsii může být způsoben mutacemi různých genů, v jejichž analýze je panel velkého množství genů užitečný.³

Studie dospěla k závěru, že diagnostika řady renálních chorob se bude za použití nových molekulárně genetických metod zpřesňovat a v některých případech může vést i k jiné diagnóze.

Obdobný panel nefrologických chorob je nyní dostupný i v České republice, především pro pacienty s těžkými nejednoznačnými formami cystických chorob a s glomerulopatií.

LITERATURA

1. Mallet AJ, McCarthy HJ, Hu G, et al. Massively parallel sequencing and targeted exomes in familial kidney disease can diagnose underlying genetic disorders. *Kidney Int* 2017;92:1493–1506.
2. Mencarelli MA, Heidet L, Storey H, et al. Evidence of digenic inheritance in Alport syndrome. *J Med Genet* 2015;52:163–174.
3. Barua M, Stellacci E, Stella L, et al. Mutations in PAX2 associate with adult-onset FSGS. *J Am Soc Nephrol* 2014;25:1942–1953.