

Doporučení pro klinickou praxi: Genetické testování u chronického onemocnění ledvin se zaměřením na fokální segmentální glomerulosklerózu (FSGS)

Priv. doz. MUDr. Dana Thomasová, Ph.D.

Ústav biologie a lékařské genetiky (ÚBLG), Fakultní nemocnice Motol a 2. lékařská fakulta UK, V Úvalu 84, 150 06, Praha 5 – Motol, dana.thomasova@fnmotol.cz

Genetická chronická onemocnění ledvin zahrnují velkou skupinu onemocnění s různým klinickým obrazem. Je známo asi 400 genů, jejichž mutace jsou příčinou monogenních onemocnění ledvin. Příznaky těchto onemocnění jsou často nespecifické. Monogenní onemocnění ledvin můžeme rozdělit do několika skupin, a to na: glomerulopatie, tubulopatie, deregulace komplementového systému, vrozené abnormality (CAKUT), cystická onemocnění ledvin (renální ciliopatie) a chronická onemocnění ledvin neznámé etiologie. Nejčastější příznaky genetických onemocnění ledvin jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1.: Možné příznaky u genetických onemocnění ledvin.

Symptomy	Příklady onemocnění
Hematurie, mikroskopická hematurie	Alportův syndrom, Syndrom tenkých membrán
Proteinurie – pěnění moč, otoky	Nefrotický syndrom, FSGS
Velké svědění kůže	Nefronoftízy
Přetrvávající bolesti břicha/zad v pase	Polycystózy ledvin – ADPKD, ARPKD
Vysoký krevní tlak v dětství/mládí	U většiny onemocnění ledvin
Časté opakování zánětů ledvin	VUR, polycystózy, vývojové malformace ledvin
Disbalance iontů, křeče, slabost, neprospívání	Tubulopatie
Výskyt onemocnění v rodině	Alportův sy., TBMS, ADPKD, famil.FSGS
Kombinace obtíží ledvin s poruchou sluchu, zraku, faciální dysmorfii, deformitami kostí, PMR, neurologickými obtížemi	Joubertův sy., Senior Løcken sy., Brachio-oto-renální sy., Nail-patella sy., Loweho sy.

Se zavedením nové generace sekvenování metodou masivního paralelního sekvenování NGS se zvýšila diagnostická výtěžnost u pacientů s chronickým onemocněním ledvin asi na 30% u pediatrických pacientů a na 6-30% u pacientů dospělých [1-3]. Prevalence genetického onemocnění ledvin u pacientů s renálním selháním, vyžadujícím dialýzu nebo transplantaci ledviny se odhaduje na 70% u dětských pacientů a na 10-15% u dospělých pacientů [4, 5]. Časně rozpoznání a detekce konkrétní mutace může mít pro pacienty a jejich rodinné příslušníky zásadní význam ohledně vyšetření, sledování a léčby, ohledně určení prognózy, klinicko-genetického a molekulárně genetického vyšetření příbuzných v riziku, určení vhodných dárců ledviny z rodiny pro transplantaci atd.

Fokální segmentální glomeruloskleróza (FSGS) u dospělých pacientů

FSGS je jedním z nejčastějších glomerulárních syndromů. FSGS se většinou manifestuje jako proteinurie, která se může pohybovat od subnefrotických až po nefrotické úrovně a může se projevit i plně rozvinutým nefrotickým syndromem. FSGS často vede k progredující ztrátě funkce ledvin a je zodpovědná za přibližně 15% případů selhání ledvin, vyžadujících renální substituční terapii včetně transplantace ledvin [6]. Je třeba zdůraznit, že FSGS není jedno

onemocnění, ale histopatologické vyjádření rozmanitých specifických onemocnění. Je to klinicky a geneticky heterogenní entita charakterizovaná v renální biopsii nálezem histologické léze částečné sklerotizace části glomerulů. FSGS je důsledkem mnoha patogenních procesů, které způsobují poranění podocytů.

Klasifikace typů FSGS v odborné literatuře není jednotná, stále se vyvíjí a jednotlivé kategorie se mohou překrývat. Obvykle se klasifikuje FSGS dle etiologie [7] na:

- Sekundární FSGS – v důsledku virových infekcí, přetížení, polékové, atd.
- Primární FSGS – vlivem neznámého cirkulujícího faktoru pravděpodobně imunologického charakteru, zvyšujícího permeabilitu filtrační bariéry v glomerulech
- Genetickou FSGS – podmíněnou patogenními mutacemi v genech ovlivňujících podocyty a bazální membrány glomerulů.

Genetická FSGS u dospělých

V posledních několika letech bylo identifikováno více než 50 genů exprimovaných v podocytech nebo glomerulárních bazálních membránách, jejichž mutace jsou zodpovědné za genetické formy FSGS. Nicméně, většina těchto nových genetických patogenních variant byla zjištěna u pacientů s nástupem FSGS v dětství. Prevalence genetických FSGS s nástupem v dospělém věku byla z velké části podceňována a jejich klinické, genetické a histologické vlastnosti nebyly jasně a systematicky popsány. V minulosti bylo provedeno jen velmi málo studií u dospělých pacientů s genetickou FSGS a navíc s konfliktními výsledky v důsledku velmi malých počtů pacientů, různých panelů genů hodnocených v jednotlivých studiích a různých inkluzních kritérií [8].

Naše multicentrická studie dospělých FSGS pacientů v České republice potvrdila, že nejčastěji mutované geny u dospělých pacientů jsou geny s autosomálně dominantní (AD) dědičností, na rozdíl od pediatrických pacientů, kde převažují geny s autosomálně recesivní (AR) dědičností. Mutace asociované s FSGS v dospělosti mají často inkompletní penetranci, což znamená, že u jedinců s určitým genotypem, t.j. s určitou mutací, nacházíme odpovídající fenotypový projev, t.j. renální onemocnění jen u některých jedinců.

Nejčastěji mutovanými geny jsou pak alportovské COL4A geny (COL4A3/4/5), jejichž produkty jsou esenciální pro stavbu a funkci bazálních membrán glomerulů, které jsou kauzální pro COL4A nefropatie a jsou příčinou genetické FSGS u více než 50% českých dospělých pacientů. U rodin s familiálním výskytem FSGS pak nacházíme v naší populaci nejvíce patogenní varianty v genu INF2, exprimovaném v podocytech a PAX2, uplatňujícího se v embryonálním vývoji ledvin (nepublikovaná data).

Kdo by měl být indikován ke genetickému vyšetření u dospělých pacientů s FSGS:

1. Pacienti, u nichž byla FSGS potvrzená histopatologickou dg. v biopsii ledviny, klinickým a laboratorním nálezem a byli vyloučeni pacienti se sekundární FSGS
2. Pacienti s FSGS s familiálním výskytem FSGS nebo chronickým onemocněním ledvin v rodině
3. Pacienti s primární FSGS kompletně resistantní na steroidy
4. Pacienti s FSGS, která klinicky a histopatologicky neodpovídá primární ani sekundární FSGS
5. Pacienti s FSGS s jiným přidruženým onemocněním, např. se srdeční vadou, vadami zraku, nystagmem, nedoslýchavostí, kostními deformitami, kožními afekcemi atd.

Doporučený klinicko-genetický postup pro suspektní genetická onemocnění ledvin včetně genetické FSGS :

1. Při podezření na genetické onemocnění ledvin zažádá lékař o klinicko-genetické vyšetření – předá žádanku pacientovi a kontakt na objednání na genetiku.
2. Lékař musí takto referovanému pacientovi předat podrobnou lékařskou zprávu obsahující detailní fenotypový popis onemocnění, rodinnou anamnézu, další přidružená onemocnění. Tuto zprávu musí pacient předat lékařskému genetikovi při konzultaci.
3. Ke genetickému vyšetření je nutno odeslat primárně pacienta s onemocněním ledvin. Objednání a vyšetření příbuzných v riziku nebo asymptomatických je v gesci lékařského genetika.

Klinicko-genetické vyšetření před započítím molekulárně genetického vyšetření

1. Lékařský genetik probere s rodinou fenotyp onemocnění ledvin, ale i dalších onemocnění, sestaví zdravotní rodokmen týkající se nejen onemocnění ledvin, ale i dalších onemocnění v rodině s možnou genetickou složkou.
2. Vysvětlí, která MG genetická vyšetření bude indikovat.
3. Vysvětlí problematiku negativního nálezu a nálezu variant nejasného významu (VUS), možnost náhodných nálezů, možnost změny klinického managementu pacienta při pozitivním/negativním nálezu, možnost změny prognózy u pacienta.

Molekulárně genetické (MG) vyšetření

Diagnostické metody MG vyšetření jsou popsány v tabulce 2.

Tabulka 2.: Možnosti molekulárně-genetických vyšetření v diagnostice

MG vyšetření	Metoda	Výstup vyšetření
Sangerovo sekvenování	Sekvenování první generace	Potvrzení konkrétní varianty/mutace
Analýza variant v počtu kopií (CNV – Copy Number Variants)	1. Array CGH/array SNP	Technika založená na mikroarray k analýze velkých delecí a duplikací
	2. MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification)	Detekuje velké i malé CNVs
NGS – sekvenování nové generace masivně paralelním sekvenováním (MPS)	1. Cílené sekvenování genových panelů	Simultánní sekvenování souboru genů specifický pro určitou skupinu onemocnění
	2. Celoxomové sekvenování (WES)	Simultánní sekvenování všech kódujících částí genomu - exom
	3. Celogenomové sekvenování (WGS)	Není součástí rutinní diagnostiky, součást vědeckých projektů

Genetická konzultace po MG vyšetření

1. V případě nálezu patogenní nebo pravděpodobně patogenní varianty podá lékař informace o konkrétním onemocnění, případných komplikacích, prognóze, možnostech změny léčby, riziku rekurence. Lékař může zprostředkovat kontakt na rodiny se stejným onemocněním, individuálně nebo přes patientské skupiny.
2. Dále lékařský genetik vysvětlí možnosti prenatální diagnostiky a prekoncepčního genetického testování, vyšetření příbuzných v riziku, presymptomatické genetické testování.
3. V případě nálezu VUS vysvětlit potřebu dalšího testování nebo re-analýzy varianty s několikaletým časovým odstupem.

Závěr

Rozvoj molekulárně genetických technik nám umožnil zařadit klinicko-genetické a molekulárně-genetické vyšetření do diagnostického procesu u celého spektra monogenních onemocnění ledvin. Genetické vyšetření může sloužit ke stanovení nebo upřesnění diagnózy, může pomoci v diagnostickém procesu u pacientů, u nichž nelze provést biopsii ledviny nebo kde se ukáže histologicko-patologické vyšetření jako nevýtěžné. Potvrzení genetické etiologie onemocnění ledvin navíc zpřesňuje prognózu a riziko renálního selhání a často umožňuje úpravu terapie, např. omezení imunosupresivní medikace u genetické FSGS, kde je tato léčba většinou neúčinná. V neposlední řadě je určení genetické diagnózy klíčové pro výběr vhodných příbuzenských dárců ledvin a určení pravděpodobnosti rekurence onemocnění ve štěpu po transplantaci a rizika pro dárce. Dále pak umožňuje plánovanou reprodukci, včetně prenatální prevence cestou preimplantační diagnostiky.

Tato práce byla podpořena grantem AZV ČR č. NV19-06-00443

Reference:

1. Groopman, E.E., et al., *Diagnostic Utility of Exome Sequencing for Kidney Disease*. N Engl J Med, 2019. **380**(2): p. 142-151.
2. Connaughton, D.M. and F. Hildebrandt, *Personalized medicine in chronic kidney disease by detection of monogenic mutations*. Nephrol Dial Transplant, 2020. **35**(3): p. 390-397.
3. Connaughton, D.M., et al., *Monogenic causes of chronic kidney disease in adults*. Kidney Int, 2019. **95**(4): p. 914-928.
4. Devuyst, O., et al., *Rare inherited kidney diseases: challenges, opportunities, and perspectives*. Lancet, 2014. **383**(9931): p. 1844-59.
5. Bassanese, G., et al., *The European Rare Kidney Disease Registry (ERKReg): objectives, design and initial results*. Orphanet J Rare Dis, 2021. **16**(1): p. 251.
6. Bose, B., D. Cattran, and R. Toronto Glomerulonephritis, *Glomerular diseases: FSGS*. Clin J Am Soc Nephrol, 2014. **9**(3): p. 626-32.
7. De Vriese, A.S., et al., *Differentiating Primary, Genetic, and Secondary FSGS in Adults: A Clinicopathologic Approach*. J Am Soc Nephrol, 2018. **29**(3): p. 759-774.
8. Lepori, N., et al., *Clinical and pathological phenotype of genetic causes of focal segmental glomerulosclerosis in adults*. Clin Kidney J, 2018. **11**(2): p. 179-190.