

CAKUT – czy potrzebne nam są badania genetyczne do ich rozpoznania?

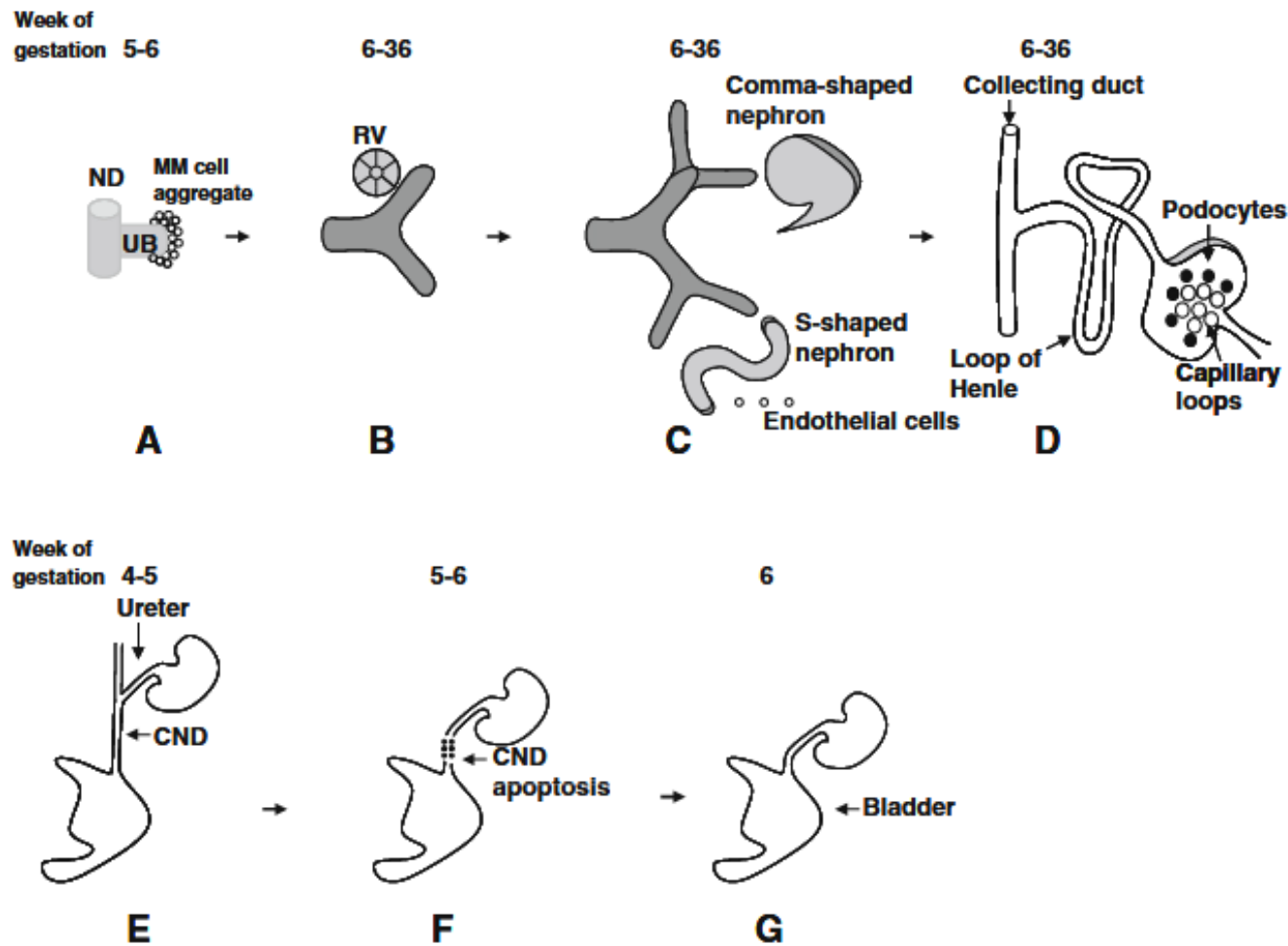
Katarzyna Kiliś-Pstrusińska

**Katedra i Klinika Nefrologii Pediatrycznej
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu**

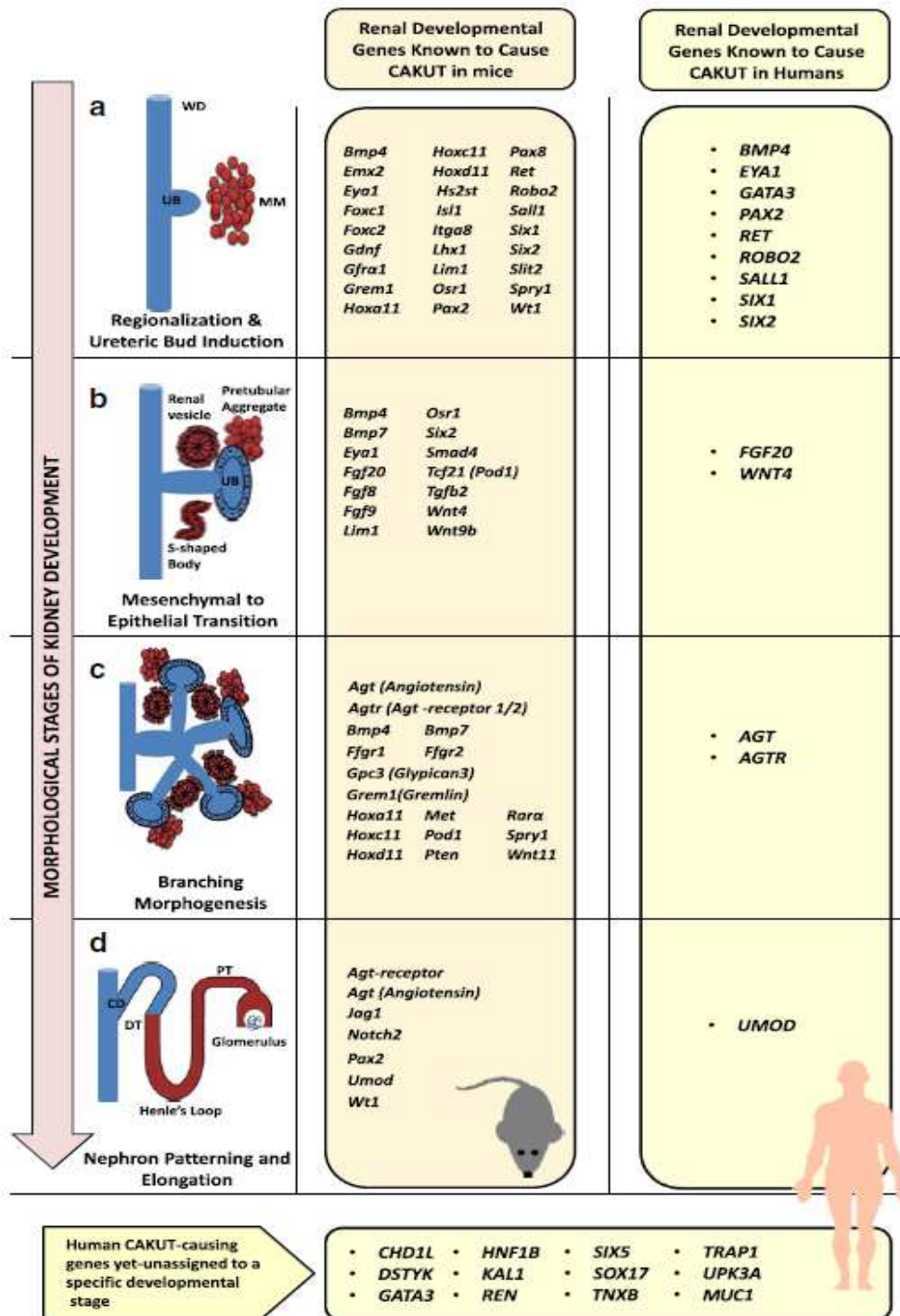
Wady wrodzone nerek i dróg moczowych

(ang. congenital anomalies of kidney and urinary tract, CAKUT)

- najczęstsze wady wrodzone (> 20% wszystkich wad)
- 3-7 : 1000 żywych urodzeń
- część wad wykrywana prenatalnie (usg) (np. MCDK 80-100%), ale wiele przypadków niezdiagnozowanych przez lata
- spektrum schorzeń o różnej ciężkości i znaczeniu klinicznym
- przyczyna PChN: SNN → dzieci 40-50%, dorośli 7%
- etiologia: **czynniki genetyczne**, epigenetyczne i środowiskowe



Normal development of the kidney and urinary tract.



1. Badania genetyczne: sekwencjonowanie genomu, mapowanie genetyczne.
2. Modele zwierzęce: manipulowanie ekspresją genów.

CAKUT

- **izolowane zaburzenie** lub zespół zaburzeń w układzie moczowym
- **element zdefiniowanego zespołu** klinicznego (anomalie pozanerkowe)
- CAKUT diagnozowany sporadycznie lub **w rodzinach**
 - ✓ ryzyko wady w rodzinie probanta: 4-20%
 - ✓ nieprawidłowości u 1 na 4 asymptomatycznych krewnych 1.stopnia
- **model dziedziczenia:** autosomalny dominujący/ recesywny, różna ekspresja i penetracja genów
- **mutacje *de novo***

Table 1. Genes involved in syndromic and non-syndromic CAKUT.

Gene	Disease
<i>ACE</i>	Renal tubular dysgenesis
<i>AGT</i>	Renal tubular dysgenesis
<i>AGTR1</i>	Renal tubular dysgenesis
<i>BMP4</i>	CAKUT
<i>DSTYK</i>	CAKUT
<i>EYA1</i>	Branchio-Oto-Renal Syndrome and renal hypoplasia
<i>FRAS1</i>	Fraser Syndrome
<i>FREM1</i>	Bifid nose, renal agenesis, anorectal malformations
<i>FREM1</i>	Fraser Syndrome
<i>GRIP1</i>	Fraser Syndrome
<i>HNF1β</i>	Multicystic dysplastic kidney, renal hypoplasia, renal cysts and diabetes Syndrome
<i>NOTCH2</i>	Alagille syndrome, renal anomalies
<i>PAX2</i>	Renal coloboma Syndrome and CAKUT
<i>REN</i>	Renal tubular dysgenesis
<i>RET</i>	Renal agenesis and Hirschsprung disease
<i>SALL1</i>	Townes–Brocks Syndrome
<i>SIX1</i>	Branchio-Oto-Renal Syndrome
<i>SIX2</i>	Renal hypodysplasia
<i>SIX5</i>	Branchio-Oto-Renal Syndrome
<i>SOX17</i>	CAKUT
<i>UPK3A</i>	Renal dysplasia
<i>WNT4</i>	Mullerian aplasia and hyperandrogenism
<i>UMOD</i>	Familial juvenile hyperuricemic nephropathy (FJHN), glomerulocystic kidney disease (GCKD), Autosomal dominant medullary cystic kidney disease 2 (MCKD2)

Wybrane mutacje genów związane z syndromicznymi CAKUT

Syndrome	Gene	Inheritance	Renal Phenotypes
Alagille	<i>JAG1</i> (Notch signaling pathway)	AD	Agensis, hypoplasia, cystic dysplasia, UPJ obstruction, VUR
Aniridia-Wilms tumor (WAGR)	<i>WT1</i>	AD	Tumor, nephromegaly
ATR-X	<i>ATRX</i>	X-linked	Hypoplasia, agensis, VUR, hydronephrosis
Branchio-oto-renal	<i>EYA1, SIX1</i>	AD	Hypoplasia, VUR
Caudal regression	<i>VANGL1</i>	AD, AR	Agensis, ectopic kidney, hypoplasia, hydronephrosis, VUR
CHARGE	<i>CHD7</i>	AD	Agensis, hypodysplasia, hydronephrosis, hydroureter
Cornelia de Lange	<i>NIPBL</i>	AD	Hypoplasia, VUR, pelvic dilatation, ectopia
Fraser	<i>FRAS1, FREM2</i>	AR	Renal agensis, cystic dysplasia, hypoplasia, hydronephrosis, bladder agensis
Hypoparathyroidism–deafness–renal	<i>GATA3</i>	AD	Agensis, hypodysplasia, VUR
Kallmann	<i>KAL1, KAL2</i>	X-linked or AD	Unilateral renal agensis, VUR, cystic dysplasia
Maturity-onset diabetes of the young type V	<i>HNF1β</i>	AD	Cystic dysplasia, hypoplasia, glomerulocystic, agensis, oligomeganephronia

Wybrane mutacje genów związane z syndromicznymi CAKUT

Meckel–Gruber	<i>MKS1–4</i>	AR	Cystic dysplasia, hypoplasia
Noonan	<i>NS1</i>	AD	Cystic dysplasia, duplication, hydronephrosis
Okihiro (acro-renal-ocular)	<i>SALL4</i>	AD	Pelvic or horseshoe kidney, hypoplasia, VUR
Pallister–Hall	<i>GLI3</i> (member of sonic hedgehog signaling pathway)	AD	Agenesis, hydronephrosis, hydro-ureter, renal ectopia, horseshoe kidney
Renal coloboma	<i>PAX2</i>	AD	Hypoplasia, VUR, UPJ obstruction
Renal-hepatic-pancreatic dysplasia	<i>EVC, EVC2</i>	AR	Cystic dysplasia
Rubinstein–Taybi	<i>CBP</i> <i>EP300</i>	AD	Unilateral agenesis, cystic hypodysplasia, urethral defects
Roberts	<i>ESCO2</i>	AR	Agenesis, hypodysplasia, hydronephrosis
Silverman (dyssegmental dwarfism)	<i>HSPG2</i>	Uncertain	Hydronephrosis
Simpson–Golabi–Behmel	<i>GPC3</i>	X-linked	Medullary cystic dysplasia
Smith–Lemli–Opitz	<i>DHCR7</i>	AR	UPJ obstruction, hydronephrosis, VUR, cystic dysplasia
Townes–Brocks	<i>SALL1</i>	AD	Agenesis, hypoplasia, PUV, VUR, meatal stenosis
Zellweger	<i>PEX</i>	AR	Cystic dysplasia, hydronephrosis

Mutations in 12 known dominant disease-causing genes clarify many congenital anomalies of the kidney and urinary tract

Hwang DY et al. *Kidney Int* 2016.

749 osób z 650 niespokrewnionych rodzin.

Fenotypy: VUR (288), hipodysplazja (120), agenezja nerki (90).

Rodzinne występowanie CAKUT: 161 (22%) osób ze 100 rodzin.

Najczęstsze fenotypy w rodzinach:

VUR (n=68), zdwojenie ukm (n=29), hipodysplazja (n=19)

Badanie: mutacje w 17 dominujących genach, uznanych za „przyczynowe”.

Mutacje genów u 47 pacjentów z 41 rodzin (6,3%).

37 heterozygotycznych mutacji w 12 różnych genach.

Mutations in 12 known dominant disease-causing genes clarify many congenital anomalies of the kidney and urinary tract

Hwang DY et al. *Kidney Int* 2016.

Mutacje genów:

SALL1 (9 rodzin), ***HNF1B*** (6), ***PAX2*** (5),
CHD1L (5), *ROBO2* (4) *EYA1* (3), *RET* (3) *GATA3* (2),
SIX2 (1), *SIX5* (1), *CDC5L* (1), *BMP7* (1).

Brak „przyczynowych” mutacji w genach:

SOX17, *UMOD*, *BMP4*, *SIX1*, *UPK3A*.

Wnioski

CAKUT jest genetycznie heterogenną chorobą.

Spośród genów uznanych za przyczynowe odnośnie izolowanych (oligosyndromicznych) CAKUT znaczenie mają tylko wybrane (12).

Mutacje ***SALL1*** mogą mieć większy udział niż wcześniej sądzono.

Mutacje w genie **SALL1** (Spalt (Sal) Like Transcription Factor 1)

Zespół Townesa-Brocksa (zespół nerkowo-uszno-odbytniczo-promieniowy (ang. TBS), 1975r., ok. 100 mutacji

- wady ucha zewnętrznego, niekiedy z czuciowym ubytkiem słuchu
- malformacje odbytu i odbytnicy
- **wady nerek:** hipoplazja/dysplazja nerek, wielotorbielowatość nerek, ectopia
- wady serca (tetralogia Fallota, wady przegrody międzykomorowej)
- wady dłoni i stóp

Wady palców rąk i stóp.

Izolowane wady nerek.

Whole-Exome Sequencing in the molecular diagnosis of individuals with congenital anomalies of kidney and urinary tract and identification of a new causative gene

Bekheirnia MR et al. *Genet Med* 2017 April ; 19(4): 412–420.

112 dzieci, 62 rodziny,

najczęstsze fenotypy CAKUT :	dysplazja nerek	14 (23%)
	agenezja nerki/hipoplazja nerek	12 (19%)
	PUV	10 (16%)
	VUR	9 (15%)

Geny związane z CAKUT (35):

BMP4, BMP7, CDC5L, CHD1L, DSTYK, EYA1, GATA3, HNF1B, KAL1, PAX2, RET, ROBO2, SALL1, SIX1, SIX2, SIX5, SOX17, TNXB, UPK3A, GLI3, JAG1, NOTCH2, TFAP2A, TBX18, WNT4 (dziedziczenie dominujące),
AGT, ACE, REN, AGTR1, FRAS1, FREM2, GRIP1, HPSE2, LRP4, ROR2 (dziedziczenie recesywne)

Whole-Exome Sequencing in the molecular diagnosis of individuals with congenital anomalies of kidney and urinary tract and identification of a new causative gene

Bekheirnia MR et al. *Genet Med* 2017 April ; 19(4): 412–420.

Mutacje w 3 rodzinach (5%) w genach:

PAX2 : dysplazja nerek

EYA1: wielotorbielowata dysplazja nerki, VUR

HNF1B : torbielowata dysplazja nerki

Mutacje w genie *PAX2* (Paired Box 2)

- po raz pierwszy zidentyfikowane (1995r.) u rodzinie pacjentów z **Renal Coloboma Syndrome**:
 - hipodysplazja nerek
 - nieprawidłowości w obrębie nerwu wzrokowego
 - głuchota
- ponad 55 mutacji w genie *PAX2*
- **mutacje *PAX2* → izolowane CAKUT**
- zróżnicowanie fenotypowe: hipodysplazja nerek, OPM, MCDK

Mutacje w genie *EYA1* (Eyes Absent Homolog 1)

Zespół skrzelowo-uszno-nerkowy

(BOR; ang. *branchio-oto-renal syndrome*)

- zmiany w obrębie twarzy, szyi (cysty, przetoki), uszu, oczu, głuchota
- **układ moczowy**: hipodysplazja, agenezja nerki, zdwojenie ukm i moczowodów
- 38-40% przypadków → mutacje *EYA1* (100),
- mutacje *SIX1* i *SIX 5* (Sine Oculis Homeobox Homolog)

Whole-Exome Sequencing in the molecular diagnosis of individuals with congenital anomalies of kidney and urinary tract and identification of a new causative gene

Bekheirnia MR et al. *Genet Med* 2017 April ; 19(4): 412–420.

PAX2 : dysplazja nerek;
dalsza diagnostyka → szczelina i inne nieprawidłowości nerwu wzrokowego

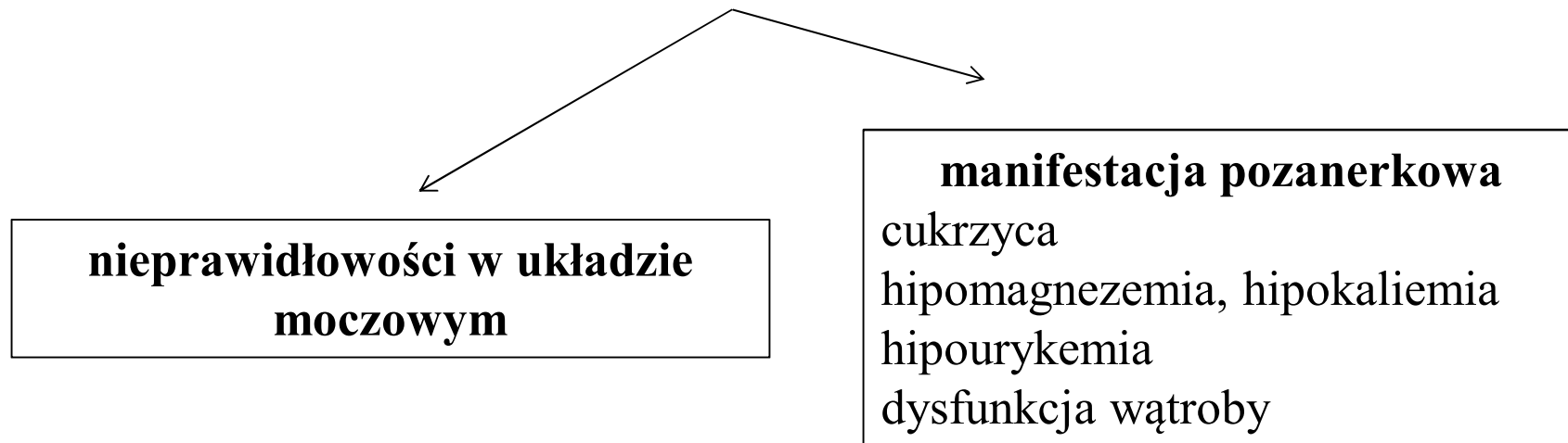
EYA1: wielotorbielowata dysplazja nerki, VUR;
dalsza diagnostyka → ocena słuchu, narządu wzroku

HNF1B : torbielowata dysplazja nerki;
dalsza diagnostyka → zwiększona echogeniczność trzustki, podwyższone enzymy wątrobowe

Mutacje *HNF1B* (Hepatocyte Nuclear Factor 1-Beta)

- obecnie najczęstsze monogenetyczne podłoże CAKUT
- HNF-1 β → organogeneza nerek, dróg moczowych, wątroby i trzustki, przytarczyc

mutacje *HNF1B*



Nieprawidłowości w układzie moczowym

- dysplazja wielotorbielowata nerek
- agenezja nerki
- hipoplazja lub dysplazja nerek
- torbiele niejasnego pochodzenia
- nerka ektopiczna
- odpływ pęcherzowo-moczowodowy
- wodonercze
- nefropatia cewkowo-śródmiąższowa

Criteria for HNF1B analysis in patients with congenital abnormalities of kidney and urinary tract

Nephrol Dial Transplant (2015) 30: 835–842
doi: 10.1093/ndt/gfu370

Anke Raaijmakers¹, Anniek Corveleyn², Koen Devriendt², Theun Pieter van Tienoven³, Karel Allegaert⁴,
Mieke Van Dyck¹, Lambertus van den Heuvel¹, Dirk Kuypers⁵, Kathleen Claes⁶, Djalila Mekahli^{1,*}
and Elena Levtchenko^{1,*}

Badania prospektywne (3 lata):

205 pacjentów z CAKUT, 147 < 16r.ż, 58 > 16r.ż.

Kryteria włączenia



1 większa anomalia nerek
albo 1 mniejsza i ≥ 1 dodatkowa
anomalia/dodatni wywiad
rodzinny

Major criteria	Minor criteria
Fetal bilateral hyperechogenic kidneys	Ectopic kidney
Multicystic dysplastic kidney	Vesico-ureteral reflux
Renal agenesis	Hydronephrosis
Hypoplastic or dysplastic kidneys	
Cysts from unknown origin	
Extra-renal criteria	Positive familial history
Diabetes mellitus	Abnormalities in kidney
Hypomagnesaemia	Abnormalities in urogenital tract
Hypokalaemia	Gout
Hyperuricaemia	Liver function abnormalities
Liver function abnormalities	Diabetes or exocrine pancreas dysfunction

Criteria for HNF1B analysis in patients with congenital abnormalities of kidney and urinary tract

Nephrol Dial Transplant (2015) 30: 835–842

doi: 10.1093/ndt/gfu370

Anke Raaijmakers¹, Anniek Corveleyn², Koen Devriendt², Theun Pieter van Tienoven³, Karel Allegaert⁴,
Mieke Van Dyck¹, Lambertus van den Heuvel¹, Dirk Kuypers⁵, Kathleen Claes⁶, Djalila Mekahli^{1,*}
and Elena Levchenko^{1,*}

WYNIKI

mutacje *HNF1B* u 20 pacjentów (10%) (inne badania: 10-30%)

7 przypadków: mutacje dziedziczne (57% rodziców, 14% rodzeństwa – chorzy)

8 przypadków: mutacje *de novo* (inne badania 50-60%)

5 przypadków – brak analizy u rodzin

Grupa z mutacją w *HNF1B* vs grupa bez: wyniki badań prenatalnych, dodatni wywiad rodzinny (choroby nerek, cukrzyca, dna) → brak różnic

U wszystkich nosicieli mutacji zmiany nerkowe obustronne.

Dzieci: dysplazja nerek, dorośli- torbiele nieznanego pochodzenia

**Wskazania do
diagnostyki *HNF1B***
*(redukcja kosztów
skriningu bez pominięcia
chorych).*

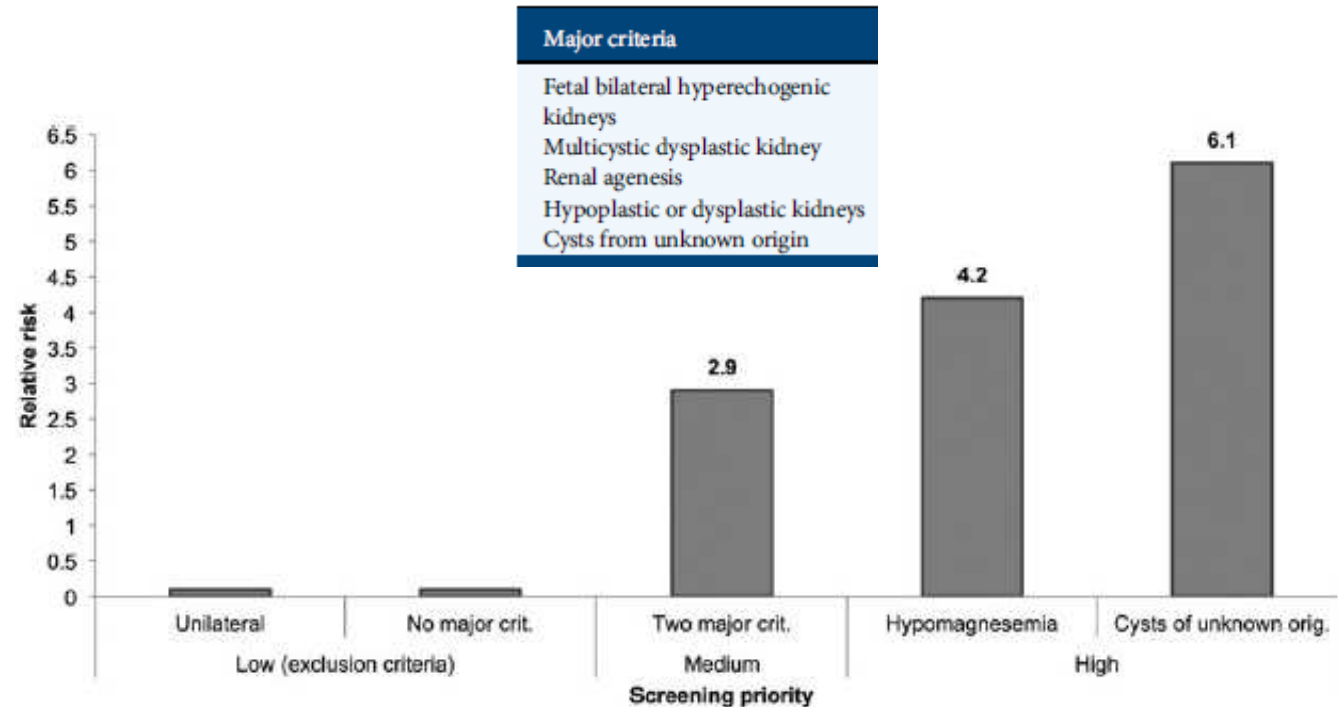


FIGURE 1: Relative risk for finding HNF1B anomalies and screening priority.

Badania u osób

**z obustronnymi nieprawidłowościami w nerkach (hipoplazja/dysplazja),
zwłaszcza z torbielami niejasnego pochodzenia i towarzyszącą
hipomagnezemią,**

niezależnie od:

wieku ujawnienia zmian

objawów pozanerkowych

dodatkowego wywiadu rodzinnego w kierunku wad układu moczowego.

Badania mutacji *HNF1B* u osób z dobrze zdefiniowanym fenotypem

1. Konsekwencje kliniczne nosicielstwa mutacji:
 - ryzyko cukrzycy potransplantacyjnej
 - ryzyko nowotworów jajnika, macicy, prostaty, wątroby
 - kobiety- anomalie macicy (u 66% badanych).
2. Wczesne rozpoznanie (rodziny) może chronić przed niepotrzebnymi badaniami i biopsją nerki.
3. Poradnictwo genetyczne: dziedziczenie dominujące

Badanie zmienności liczby kopii

(ang. copy number variation; CNV)

Copy-number variation associated with congenital anomalies of the kidney and urinary tract

Pediatr Nephrol (2015) 30:487–495

Georgina Caruana • Milagros N. Wong • Amanda Walker • Yves Heloury •
Nathalie Webb • Lilian Johnstone • Paul A. James • Trent Burgess • John F. Bertram

Anomaly	Number of patients with anomaly (%/ total cohort)	Number of patients with CNV /anomaly (%/ anomaly)
VUR	29 (16.3)	4 (14)
PUV	29 (16.3)	7 (24)
PUJ obst	26 (14.6)	0 (0)
Duplex kidney	25 (14.0)	0 (0)
Hypoplasia/dysplasia	23 (12.9)	1 (4.4)
Hydronephroureterosis ^a	17 (9.6)	3 (18)
MCDK	10 (5.6)	3 (30)
Renal agenesis	10 (5.6)	0 (0)
VUJ obst	9 (5.0)	0 (0)
Total	178	18 (10.1%)

178 dzieci z CAKUT, u **10,1%** zmiany

Rodzice dzieci z CAKUT: 10/18

Mutacja dziedziczna: 9/10 (1-M, 8-P)

Mutacja *de novo*: 1/10

Wnioski:

1. Submikroskopowe mikrorearanżacje genomowe (mikrodelecje i mikroduplikacje) u istotnego odsetka pacjentów z CAKUT.
2. CNVs jako badanie skriningowe przed sekwencjonowaniem genomu.
3. Geny w zmienionych regionach genomu → nowi kandydaci dla CAKUT.

DNA copy number variants: A potentially useful predictor of early onset renal failure in boys with posterior urethral valves[☆]

A. Faure^a, A. Bouty^a, G. Caruana^b, L. Williams^c, T. Burgess^{c,d},
M.N. Wong^b, P.A. James^c, M. O'Brien^a, A. Walker^e, J.F. Bertram^b,
Y. Heloury^a

^aDepartment of Urology, Royal Children's Hospital, Parkville, VIC 3052, Australia

^bDevelopment and Stem Cells Program, Monash Biomedicine Discovery Institute, and Department of Anatomy and Developmental Biology, Monash University, Clayton, VIC 3800, Australia

Zastawki cewki tylnej (PUV):

1 : 3000-8000 chłopców,
ryzyko SNN – 28%,
przypadki PUV u bliźniąt i rodzeństwa

- ✓ **45 chłopców z PUV**, wiek: 1mc-14,5 lat, mediana 8 lat;
- ✓ obserwacja: 12 mc -17 lat (mediana 10,2)

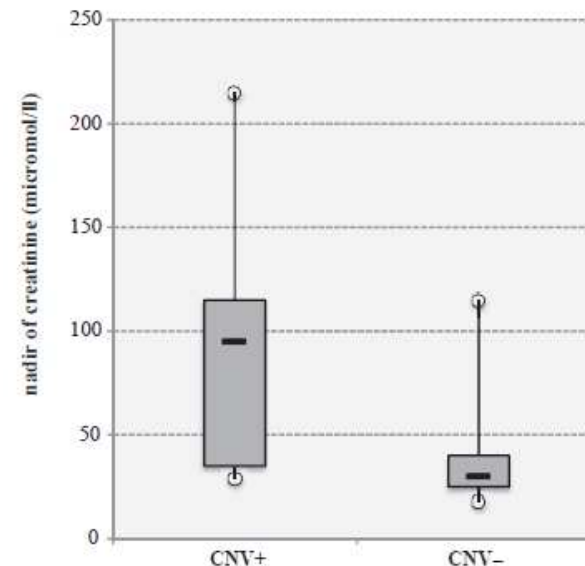
CNVs (+) u 12 pacjentów, zidentyfikowano 13 CNVs (13/45),
duplikacja DNA u 10, delecja u 2 chłopców.

Badanie rodziców 8/12 dzieci: mutacja dziedziczna 7/8 (M-1, P-6),
mutacja de novo 1/8

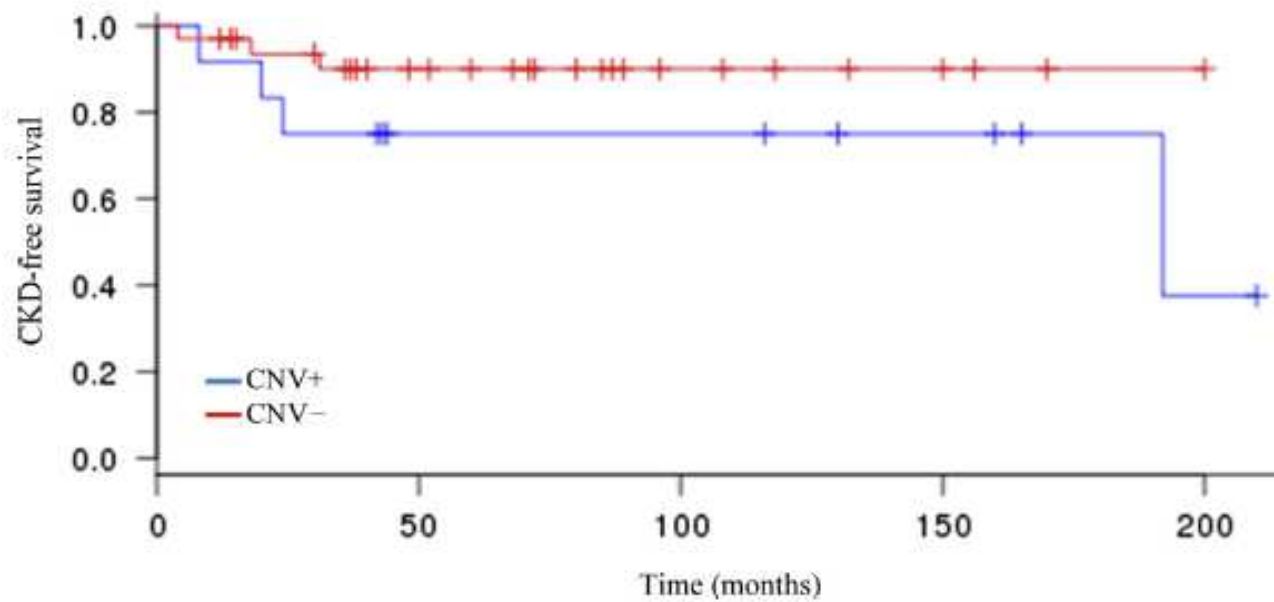
Wyniki

1. CNVs częstsze niż w ogólnej populacji (**29%** vs **5-10%**)
→ u części pacjentów PUV zdeterminowane genetycznie

2. Aberracje genetyczne związane z
wyższym stężeniem kreatyniny w
1.r.ż.



CNVs >100 Kb → wskaźnik ryzyka rozwoju SNN



Predyktory CKD i ESRD: małowodzie, wada wykryta <24 hbd, prenatalnie hiperechogenne nerki, obustronne VUR, wysokie sCr w 1 r.ż.

WNIOSKI

DNA copy number variants: A potentially useful predictor of early onset renal failure in boys with posterior urethral valves[☆]

1. Wykrycie niezrównoważonych rearanżacji genomowych pomocne w identyfikacji płodów (badanie prenatalne) i noworodków podejrzanych o PUV i z wysokim ryzykiem zaburzenia funkcji nerek, zwłaszcza w przypadku braku innych cech niekorzystnych rokowniczo (np. małowodzie, ciężka hipoplazja płuc).
2. CNVs pomocne w prognozowaniu przebiegu PChN u chłopców z PUV - dodatkowy wskaźnik ryzyka rozwoju SNN.

-
- W sumie **do 30% pacjentów z CAKUT ma mutacje:** albo pojedynczych genów (*HNF1B*, *PAX2*) albo dużą zmienność liczby kopii.
 - W przybliżeniu 50% to mutacje *de novo*.
 - Genotyp - fenotyp: heterogenność fenotypów związanych z danym genem, ten sam fenotyp i różne przyczyny genetyczne.



Interakcje genów /badania na modelach zwierzęcych → fenotyp *PAX2* modyfikowany przez interakcje genów *WT1* i *HNFB1*/.

Regulacja epigenetyczna /np. ekspresja *PAX2* zależna od właściwości prenatalnego środowiska/.

CAKUT a badania genetyczne – perspektywy

- Większa dostępność badań genetycznych (niższy koszt).
- Duże jednorodne grupy badanych, określenie genetycznych uwarunkowań CAKUT.
- Klasyfikacja szerokiego spektrum CAKUT w odniesieniu do podłoża genetycznego, a nie obrazowania w usg (znaczenie kliniczne).
- Stratyfikacja ryzyka rozwoju niewydolności nerek zależnie od genotypu.
- Zrozumienie szlaków sygnałowych zaangażowanych w dysregulację rozwoju nerek → wstęp do rozwoju spersonalizowanych terapii.

CAKUT a badania genetyczne: co istotne dla klinicysty?

- Istotne w diagnostyce różnicowej i postawieniu ostatecznego rozpoznania.
- Nawet w przypadkach izolowanych CAKUT należy brać pod uwagę możliwe inne genomowe zaburzenia.
- Badania genetyczne pomocne w poszukiwaniu pozanerkowych zmian u dzieci z CAKUT i członków ich rodzin (CAKUT – jako pierwsza manifestacja choroby układowej).
- Prognoza przebiegu choroby układu moczowego, ew. innych współistniejących schorzeń.
- Wyodrębnienie grupy dzieci wymagających dalszej obserwacji.
- Poradnictwo genetyczne.

