

Badanie międzyośrodkowe: „Aspekty genetyczne chorób przebiegających z krwinkomoczem”

- DONIESIENIE WSTĘPNE

OLGA BIELSKA

KATEDRA I KLINIKA PEDIATRII, NEFROLOGII I NADCIŚNIENIA

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY



AUTORZY

O.Bielska¹, BS.Lipska-Ziętkiewicz², D.Vetter², B.Wasąg², M.Szczepańska³,
D.Roszkowska-Bjanid³, A.Wasilewska⁴, K.Taranta-Janusz⁴, I.Jadeszko⁴, L.Hyla-
Klekot⁵, J.Taraszkiewicz⁵, M.Pańczyk-Tomaszewska⁶, E.Kuźma-Mroczkowska⁶,
J.Zachwieja⁷, D.Ostalska-Nowicka⁷, K.Jobs⁸, M.Tkaczyk⁹, A.Jander⁹,
R.Stankiewicz¹⁰, I.Olszak-Szot¹⁰, D.Zwolińska¹¹, J.A.Pietrzyk¹², E.Jarocka-Cyrta¹³,
M.Śniadecka¹³, A.Brodkiewicz¹⁴, M.Zajączkowska¹⁵, A.Wieczorkiewicz-Plaza¹⁵,
A.Dębska-Ślizień¹⁶, A.Żurowska¹

¹KATEDRA I KLINIKA PEDIATRII, NEFROLOGII I NADCIŚNIENIA, GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY-

²KATEDRA I ZAKŁAD BIOLOGII I GENETYKI MEDYCZNEJ, GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY-

³KATEDRA I KLINIKA PEDIATRII, ODDZIAŁ NEFROLOGII DZIECIĘCEJ Z PODODDZIAŁEM DIALIZOTERAPII DZIECI, ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY W KATOWICACH

⁴KLINIKA PEDIATRII I NEFROLOGII, UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU

⁵CHORZOWSKIE CENTRUM PEDIATRII I ONKOLOGII, ODDZIAŁ NEFROLOGII DZIECIĘCEJ

⁶KATEDRA I KLINIKA PEDIATRII I NEFROLOGII, WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

⁷KLINIKA KARDIOLOGII DZIECIĘCEJ, NEFROLOGII I NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO WIEKU ROZWOJOWEGO, UNIWERSYTET MEDYCZNY W POZNANIU

⁸KLINIKA PEDIATRII, NEFROLOGII I ALERGOLOGII KLINICZNEJ, WOJSKOWY INSTYTUT MEDYCZNY W WARSZAWIE

⁹KLINIKA PEDIATRII, IMMUNOLOGII I NEFROLOGII, INSTYTUT CENTRUM ZDROWIA MATKI POLKI W ŁODZI

¹⁰ODDZIAŁ KLINICZNY PEDIATRII I NEFROLOGII, WOJEWÓDZKI SZPITAL ZESPOŁONY IM. L. RYDYGIERA W TORUNIU

¹¹KATEDRA I KLINIKA NEFROLOGII PEDIATRYCZNEJ, UNIWERSYTET MEDYCZNY WE WROCŁAWIU

¹²KLINIKA NEFROLOGII DZIECIĘCEJ I ZAKŁAD DIALIZ, KATEDRA PEDIATRII POLSKO-AMERYKAŃSKIEGO INSTYTUTU PEDIATRII, COLLEGIUM MEDICUM UJ W KRAKOWIE

¹³KLINIKA PEDIATRII, GASTROENTEROLOGII I ŻYWIENIA -ODDZIAŁ PEDIATRYCZNY II Z PODODDZIAŁEM NEFROLOGII I KARDIOLOGII DZIECIĘCEJ, KATEDRA PEDIATRII KLINICZNEJ, UNIWERSYTET WARMIŃSKO-MAZURSKI W OLSZTYNIE

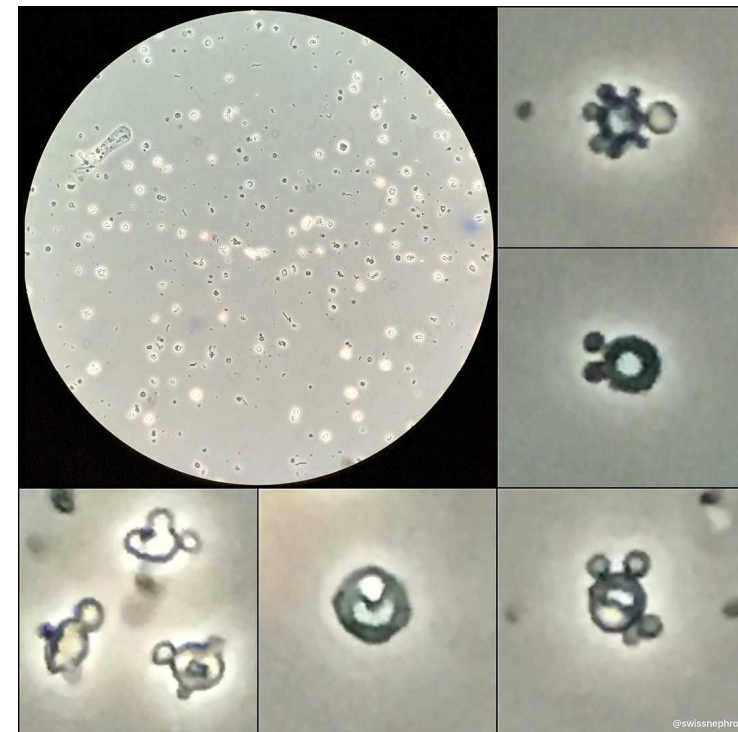
¹⁴KLINICZNY ODDZIAŁ PEDIATRII, NEFROLOGII ZE STACJĄ DIALIZ I LECZENIA OSTRYCH ZATRUĆ, SZCZECIN

¹⁵II KLINIKA PEDIATRII, KLINIKA NEFROLOGII DZIECIĘCEJ, UNIWERSYTET MEDYCZNY W LUBLINIE

¹⁶KATEDRA I KLINIKA NEFROLOGII, TRANSPLANTOLOGII I CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH, GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

WSTĘP: Podłoże genetyczne rodzinnego krwinkomoczu jest zróżnicowane

- najczęstsze opisywane zaburzenia genetyczne dotyczą mutacji w genach kodujących białka **kolagenu IV** (**przede wszystkim $\alpha 5$, $\alpha 4$, $\alpha 3$**) (40-50%):
 - Zespół Alporta
 - Nefropatia cienkich błon podstawnych (TBMN)
- sporadycznie opisuje się mutacje w genie **miozyny (MYH9)**:
 - Zespół Epsteina, zespół Fechtnera



<https://s-media-cache-ak0.pinimg.com/originals/0a/d2/30/0ad230df6aaabfab458104855183494f.jpg>

ZESPÓŁ ALPORTA

- postępująca nefropatia:
 - krwinkomocz / krwimocz
 - albuminuria, białkomocz, zespół nerczycowy
 - nadciśnienie tętnicze
 - schyłkowa niewydolność nerek
- postępujący niedosłuch odbiorczy
- zmiany oczne w obrębie soczewki, siatkówki i rogówki
- dodatkowo w biopsji nerki (ME): zmiany ultrastrukturalne błony podstawnej kłębuszków – zwielokrotnienie i rozszczepienie blaszki gęstej

TBMN

- zwykle łagodna nefropatia:
 - stały lub okresowy krwinkomocz
 - możliwe epizody makrospokowego krwimoczu
 - rzadko: albuminuria, białkomocz, nadciśnienie tętnicze
- brak niedosłuchu i zmian ocznych
- dodatkowo w biopsji nerki (ME): rozlane ścieńczenie błony podstawnej kłębuszków
- ~ 1% populacji

Podłoże genetyczne zespołu Alporta i nefropatii cienkich błon podstawnych (TBMN)

	SPOSÓB DZIEDZICZENIA	GEN	Łańcuch kolagenu IV	CZĘSTOŚĆ
ZESPÓŁ ALPORTA	sprzężony z płcią (XLAS)	COL4A5	Alfa 5	~85%
	autosomalny recesywny (ARAS)	COL4A3 COL4A4	Alfa 3 Alfa 4	~15%
TBMN	autosomalny dominujący	COL4A4	Alfa 4	} 40-50%
	autosomalny dominujący	COL4A3	Alfa 3	
	? AD?	COL4A1, COL4A2, LMX1B, etc.		>50%

Badania genetyczne populacji polskiej

- Nieznana epidemiologia AS ani TBMN w polskiej populacji.
- Nieznana częstość występowania poszczególnych mutacji w genach kodujących białka łańcucha alfa kolagenu IV.
- Diagnostyczne badania genetyczne mutacji w genach kodujących białka łańcucha alfa kolagenu IV nie są refundowane.
- Badania naukowe podłoża genetycznego AS i TBMN były wykonywane dotąd sporadycznie.

Badanie międzyośrodkowe - doniesienie wstępne

14 POLSKICH OŚRODKÓW NEFROLOGICZNYCH



Metody

Zebranie danych klinicznych

Hereditary Nephritis Registry – www.alport.macuk.pl

Hereditary Nephritis Registry

Hereditary Nephritis Registry

Login or Register new account

Copyright © Piotr Macuk 2016-2017

Hereditary Nephritis Registry

Patients

Pan Testowy (GEN) Sign out

Signed in successfully.

Patients

New Patient

Code or Study ID part

Code	Date of birth	Study ID	Gender	Year of first urinary abnormalities
AdMi24022003	2003-02-24	AL069	F	2011
AdSt02082007	2007-08-02	AL041	M	2014
AlGr03012002	2002-01-03	AL035	F	2008

Metody Badanie genetyczne

- **I ETAP – BADANIE PRZESIEWOWE (naukowe)**

- Jednoczesna analiza sekwencji kodujących genów *COL4A3*, *COL4A4*, *COL4A5* techniką NGS (sekwencjonowanie nowej generacji: MULTIPLICOM-Alport gene-panel, Illumina MiSeq)
- czułość 80-95%

- **II ETAP – BADANIE WERYFIKUJĄCE (diagnostyczne)**

- potwierdzenie występowania **określonej mutacji** badaniem metodą Sanger (sekwencjonowania bezpośredniego)
- badanie diagnostyczne refundowane przez NFZ, wynik imienny

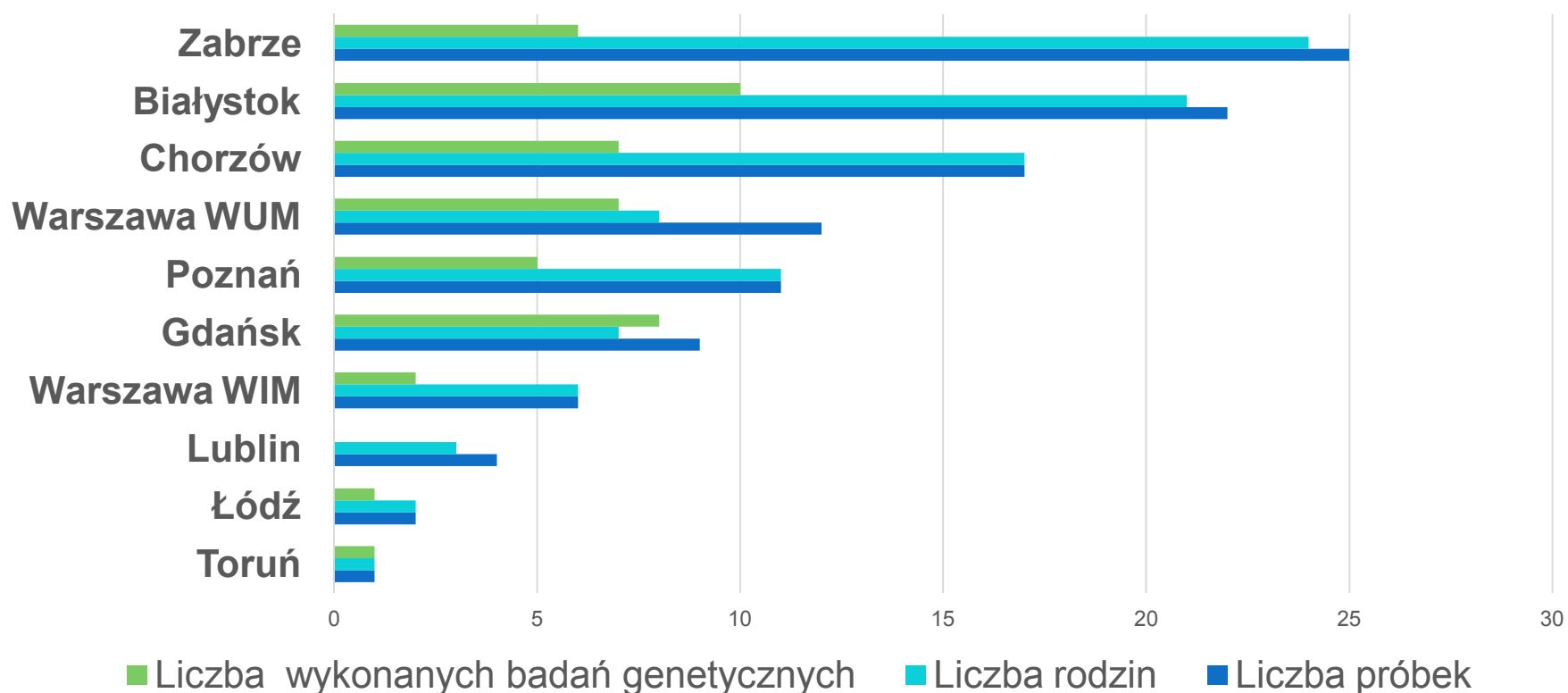
- **III ETAP – BADANIE POZOSTAŁYCH CZŁONKÓW RODZINY (diagnostyczne)**

- ocena występowania **określonej mutacji** badaniem metodą Sanger u członków rodziny
 - badanie refundowane przez NFZ, wynik imienny
- 

- ✓ Zebrano dotychczas krew na badanie genetyczne od **109 pacjentów** ze 100 rodzin.

I etap badania genetycznego wykonano u **47** dzieci z 47 rodzin (25 K, 22 M) z 10 ośrodków nefrologicznych.

UDZIAŁ OŚRODKÓW NEFROLOGICZNYCH



Charakterystyka kliniczna

Fenotyp 47 chorych z 47 rodzin

Wywiad rodzinny	Krwinkomocz +/- białkomocz	NT	Niewydolność nerek	Niedosłuch	Zmiany oczne
Dodatni 38/47 (81%)	38/38 (100%)	0	2/38 (5%)	2/38 (5%)	0
Ujemny 6/47 (13%)	6/6 (100%)	0	0	1/6 (17%)	1/6 (17%)
Nieznany 3/47 (6%)	3/3 (100%)	1/3 (33%)	2/3 (66%)	0	0
SUMA 47/47	47/47 (100%)	1/47 (2%)	4/47 (8%)	3/47 (6%)	1/47 (2%)

Wyniki wstępne

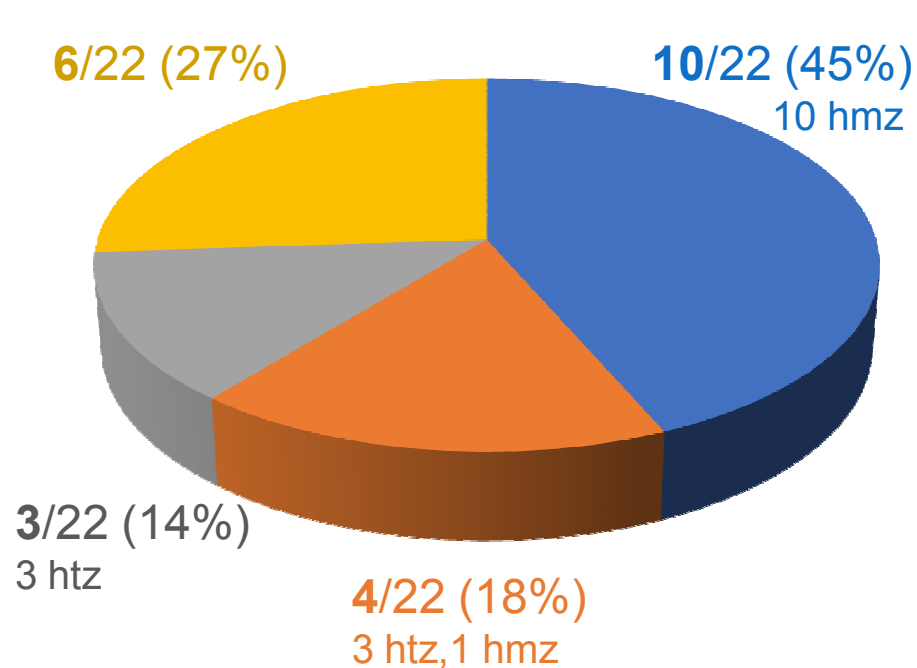
Badania genetyczne

- U 37/47 osób (**~79%**) wykryto mutacje w genach kodujących łańcuch alfa kolagenu IV, z czego 89% stanowiły dzieci z krwinkomoczem rodzinnym.
- Pewne rozpoznanie zespołu Alporta n=10 (**~21%**)
- Prawdopodobne rozpoznanie zespołu Alporta n=15 (**~32%**)
- > **14 nowych wariantów** (**~30%**) prawdopodobnie patogennych mutacji („mutacje prywatne”).
- Prawdopodobne rozpoznanie nefropatii cienkich błon podstawnych (TBMN) n=12 (**~26%**)
 - > heterozygotyczne mutacje COL4A4 (65%) i COL4A3 (28%)
- Wynik negatywny n=10 (**~21%**), z czego jedynie połowa miała dodatni wywiad rodzinny (5/10), a 3/10 prezentowało steroidooporny zespół nerczycowy z obrazem biopsji nerki w ME przypominającym zespół Alporta.

53%
(13%
„de novo”)

Wyniki wstępne Badania genetyczne

Chłopcy (22)



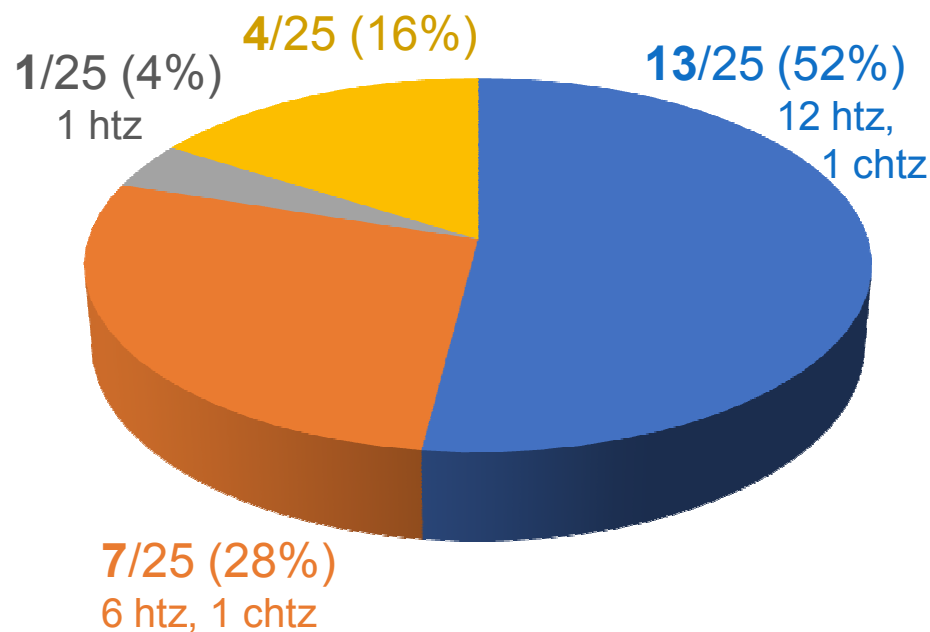
■ COL4A5

■ COL4A3

■ COL4A4

■ brak mutacji

Dziewczynki (25)



■ COL4A5

■ COL4A3

■ COL4A4

■ brak mutacji

Charakterystyka kliniczna pacjentów z genetycznie potwierdzonym rozpoznaniem AS (lewy) vs. nosicielami VOUS w genach COL4A4, COL4A3 (prawy)

Wywiad rodzinny	AS	Wywiad rodzinny	VOUS
Izolowany krwinkomocz	4/23 (17%)	Izolowany krwinkomocz	7/12 (58%)
+ niewydolność nerek	8/23 (35%)	+ niewydolność nerek	2/12 (16%)
+ niewydolność nerek + niedosłuch	7/23 (30%)	+ niewydolność nerek + niedosłuch	1/12 (8%)
+ niedosłuch	1/23 (4%)	+ niedosłuch	1/12 (8%)
DODATNI WYWIAD łącznie	20/23 (87%)	DODATNI WYWIAD łącznie	11/12 (92%)
Ujemny	3/23 (13%)	Ujemny (nieznany)	1/12 (8%)

Ciekawe przypadki

- 5-letnia dziewczynka z krwinkomoczem i białkomoczem
 - 2 różne mutacje *COL4A5* na obu chromosomach X (złożona heterozygota) -> dziecko dwójki rodziców z zespołem Alporta (ojciec – pełnoobjawowy XLAS, matka – krwinkomocz).
- 10-letnia dziewczynka z krwinkomoczem i białkomoczem, z ujemnym wywiadem rodzinnym
 - nowy wariant *COL4A5* na chromosomie X (heterozygota) + złożona heterozygota *COL4A4* (2 różne mutacje, chr. 2) – XLAS? / ARAS?

Informacja końcowa

- Wstępne wyniki badań naukowych wymagają potwierdzenia metodą Sangera celem postawienia ostatecznego rozpoznania genetycznego umożliwiającego udzielenie rodzinom porady genetycznej.
- Wstępne wyniki są już widoczne w rejestrze Hereditary Nephritis Registry.
- Wstępny (naukowy) wynik badania oraz – dla przypadków ze stwierdzoną mutacją patogenną - skierowanie na badanie metodą Sangera zostaną wysłane do ośrodków nefrologicznych pocztą.

Dziękujemy za dotychczasową sprawną współpracę!

Olga Bielska

Beata S. Lipska-Ziętkiewicz

Aleksandra Żurowska

