

Η γενετική στην κλινική νεφρολογία. Το παράδειγμα της πολυκυστικής νόσου.

Γ. Τσιρπανλής
Νεφρολόγος

Νεφρολογικό Τμήμα, Γ.Ν. Αθηνών, «Γ. Γεννηματάς»

Δήλωση σύγκρουσης συμφερόντων



Διάλεξη (Κλινικό φροντιστήριο)

Εισαγωγή (Γενετική και κλινική νεφρολογία)

Γενετικός έλεγχος και γενετική διάγνωση

Ο γενετικός έλεγχος στη πολυκυστική νόσο των νεφρών

Βιβλιογραφία

Genetics in Clinical Nephrology, Renal Week, Philadelphia, USA, 2023

KDIGO 2023 CLINICAL PRACTICE GUIDELINE FOR THE EVALUATION,
MANAGEMENT, AND TREATMENT OF AUTOSOMAL DOMINANT
POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE (ADPKD)

PUBLIC REVIEW DRAFT

October 2023

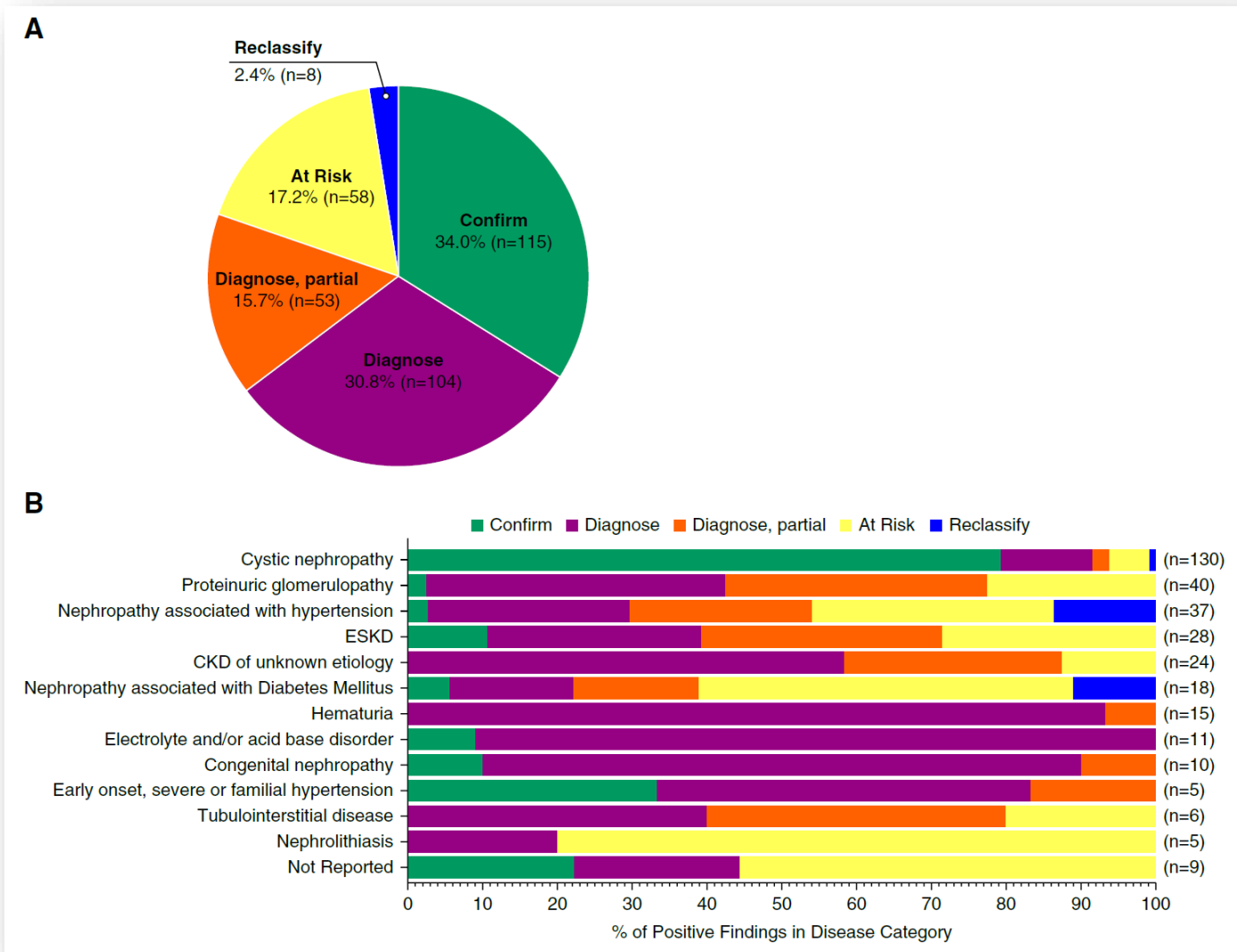
Ιατρείο Πολυκυστικής Νόσου,

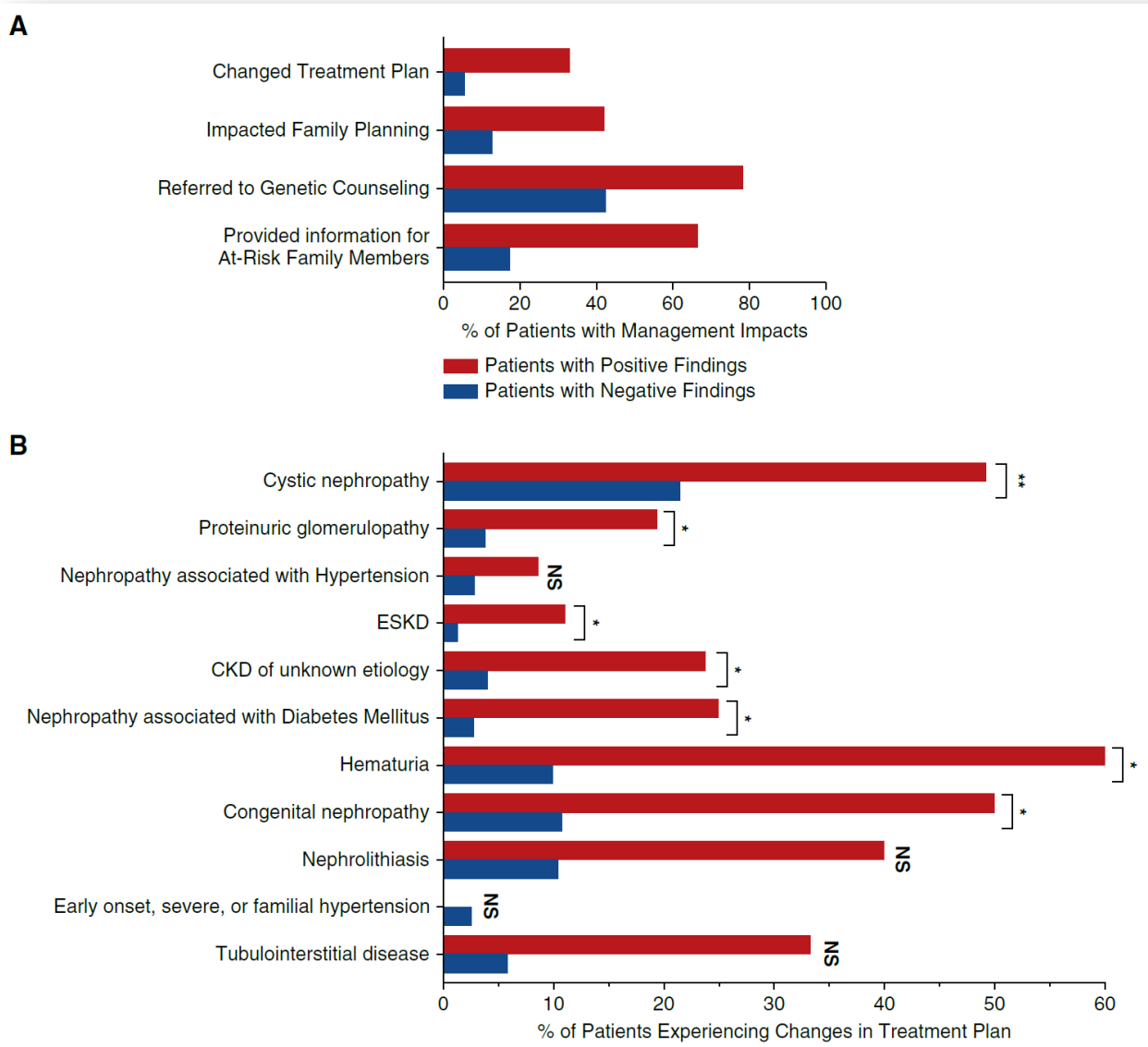
Νεφρολογικό Τμήμα, Γ.Ν. Αθηνών «Γ. Γεννηματάς»

2018

The Clinical Utility of Genetic Testing in the Diagnosis and Management of Adults with Chronic Kidney Disease

JASN 34: 2039–2050, 2023





The Clinical Utility of Genetic Testing in the Diagnosis and Management of Adults with Chronic Kidney Disease

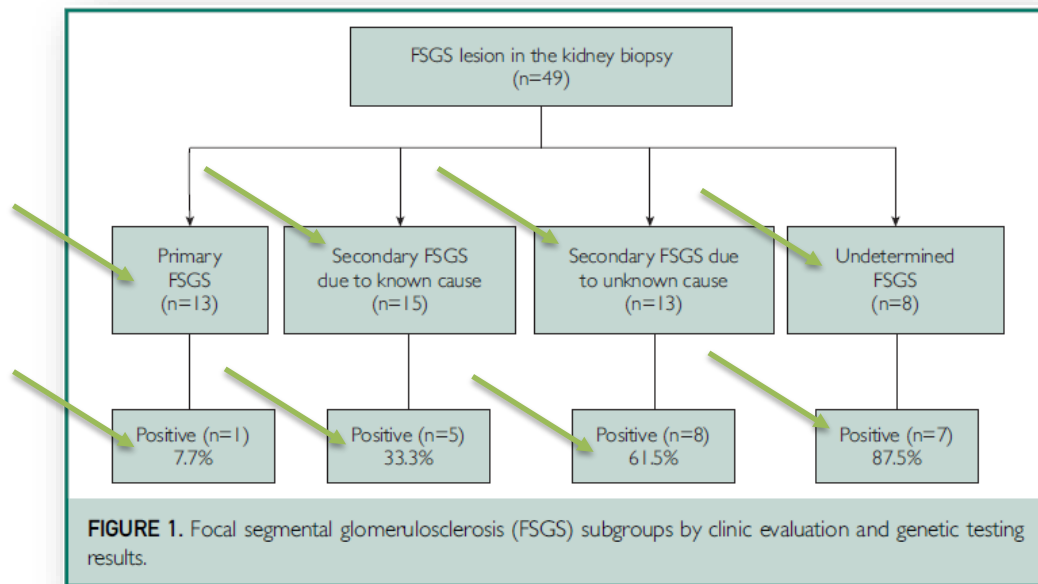


TABLE 2. Genes With Causative Genetic Variants Detected

Genes	
Collagen, no. (%)	11 (52.4)
COL4A3	7
COL4A4	2
COL4A5	2
Podocyte, no. (%)	8 (38.1)
NPHS2	3
INF2 ^a	3
TRPC6	1
NPHS1 ^b	1
Other, no. (%)	2 (9.5)
SMARCAL1	1
UMOD	1
Total, no. ^c	21

TABLE 4. Univariate Association Between Clinical and Histologic Characteristics and Positive Genetic Testing Results^a

Clinical Predictor	Odds Ratio (95% CI) ^b	P
Positive family history	13.8 (3.7-62.4)	<.001
Female sex (vs male)	5.1 (1.5-19.9)	.01
Proteinuria (g/24 h) ^c	0.8 (0.6-0.9)	.02
Albumin (g/dL) ^c	2.1 (1.1-4.9)	.04
Absence of nephrotic syndrome	8.2 (1.9-58.1)	.004

Genomics in the kidney clinic

Autosomal dominant polycystic kidney disease

The commonest

PKD1 (~78%), *PKD2* (~15%) and *IFT140* (~2%)

Collagen-IV kidney disease

Alport syndrome

The key collagen-IV genes, *COL4A3* and *COL4A4* on chromosome 2 and *COL4A5* on chromosome X, encode the alpha-3, -4 and -5 chains of collagen-IV

Heterozygous variants **thin basement membrane nephropathy**

Likely pathogenic variants in *COL4A3/A4*, **FSGS and IgA nephropathy**, long-term surveillance for the development of hypertension, proteinuria and kidney dysfunction

Autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease (ADTKD)

UMOD or *MUC1*

Podocytopathies

Steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS).

A monogenic cause may underlie 10–43% of **FSGS cases**, especially steroid-resistant cases

Gene	Patients Screened	Patients with Causative Mutation	Screened Positive (%)
<i>NPHS2</i>	1088	138	12.7
<i>WT1</i>	902	48	5.3
<i>NPHS1</i>	208	41	19.7
<i>SMARCAL1</i>	68	12	17.6
<i>PLCE1</i>	75	10	13.3
<i>PTPRO</i>	45	6	13.3
<i>LAMB2</i>	84	5	6.0
<i>INF2</i>	112	4	3.6
<i>COQ6</i>	30	3	10.0

In adult-onset disease pathogenic variants have been identified in *NPHS2*, *INF2*, *TRPC6*, *ACTN4*, *LMXIB*, as well as the collagen-IV genes.

In patients with recent African ancestry, FSGS has also been associated with common risk variants in *APOL1* which protect against trypanosomiasis but seem to render kidneys more susceptible to permanent injury from other causes including hypertension and HIV.¹⁶

Atypical hemolytic-uremic syndrome

CFH, MCP

Genomic testing also has an important role in **kidney transplantation**.

- **Genes with available specific therapies pre- and post-transplantation**
Fabry disease; cystinosis; hyperoxaluria ...
- **Diseases with risk of recurrence on kidney graft**
aHUS, GNC3, PH1, APRT deficiency, congenital nephrotic syndrome with FinMajor variants
- **Extra-renal features with special considerations for transplantation**
Diabetes in HNF1B nephropathy, cystinosis, mitochondrial diseases...
- **Testing living related donor**
- **Diseases at risk for cancer pre- and post-transplantation**
Tuberous sclerosis, Von Hippel Lindau diseases, WT1 pathogenic variants

Γενετικές βλάβες και μέθοδοι ανίχνευσης

- 1% του ανθρώπινου γονιδιώματος: Εξώνια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες (20.000 γονίδια)
- 4.000 γονίδια σχετίζονται με νόσους που κληρονομούνται σύμφωνα με τους νόμους του Mendel

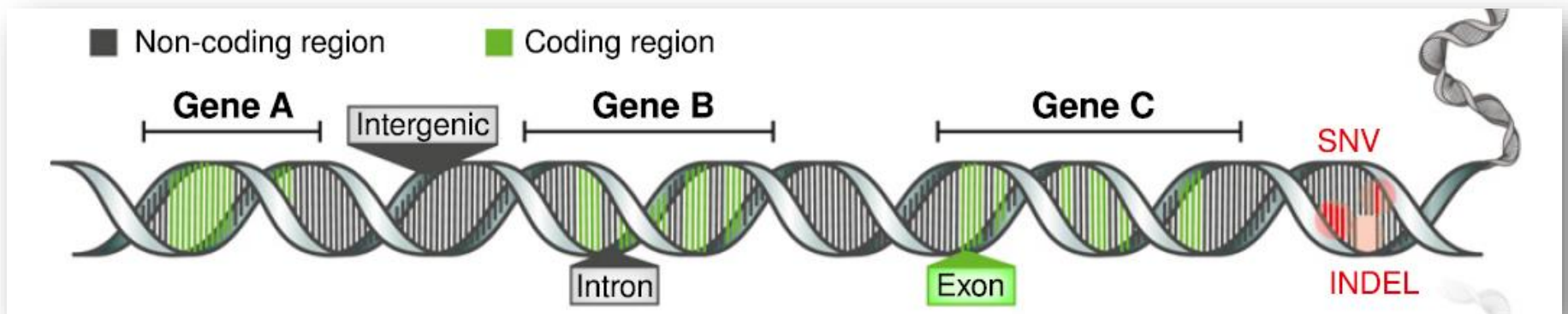
Γενετικές παραλλαγές [variants]

(αλλαγές στην αλληλουχία των νουκλεοτιδίων που επηρεάζουν [ή όχι] τη δομή και τη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης που κωδικοποιούν)

Μικρής έκτασης (οι πιο συχνές)

Παραλλαγές ενός νουκλεοτιδίου [Single-nucleotide variants, SNVs]: αλλαγές (υποκατάσταση) μιας μόνο βάσης (νουκλεοτιδίου) που μπορεί να διαταράξει την αλληλουχία των αμινοξέων στην πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το γονίδιο.

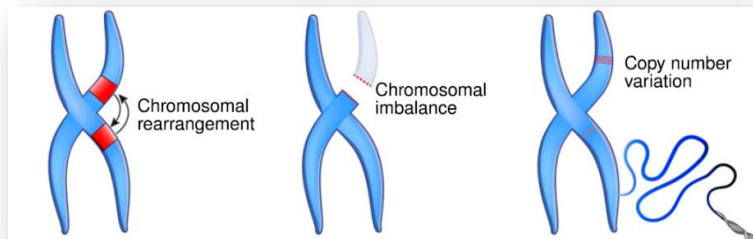
Προσθήκες ή απαλοιφές νουκλεοτιδίων μικρής έκτασης (2-1000 βάσεων) [Insertion-Deletion, INDELs]



Δομικές (μεγάλης έκτασης) αλλαγές στα χρωμοσώματα (5-10%)

Παραλλαγή αριθμού αντιγράφων (**Copy number variation, CNV**): προσθήκες ή απαλοιφές μεγάλου αριθμού (> 1000) βάσεων) σε ένα ή περισσότερα σημεία.

Χρωμοσωμιακή ανισορροπία – αναδιάταξη: Προσθήκες ή απαλοιφές σε τμήματα ή και ολόκληρα χρωμοσώματα



Μέθοδοι γενετικού ελέγχου

Μέθοδοι αλληλούχησης (για μικρές παραλλαγές [SNVs – INDELS], τις πιο συχνές)

Sanger sequencing

Μέθοδος μεγάλης ακριβείας (γρήγορη και φθηνή) αλλά για μικρό τμήμα του DNA.



Επιβεβαίωση/αποκλεισμός μιας γνωστής παραλλαγής σε ένα ασθενή ή σε μια νόσο π.χ. επιβεβαίωση/αποκλεισμός ADPKD για τα μέλη της οικογένειας ενός ασθενούς ή ανίχνευση G1/G2 ή G1/G1 ή G2/G2 variants σε APOL1

Μαζική παράλληλη αλληλούχηση – αλληλούχηση επόμενης γενιάς [massively parallel sequencing / Next generation sequencing (NGS)]

Η κατ'εξοχήν χρησιμοποιούμενη σήμερα μέθοδος, η λιγότερο χρονοβόρα και ακριβή

1. Σε στοχευμένο πάνελ γονιδίων [Targeted gene panels]



Collagen, no. (%)	11 (52.4)
COL4A3	7
COL4A4	2
COL4A5	2
Podocyte, no. (%)	8 (38.1)
NPHS2	3
INF2 ^a	3
TRPC6	1
NPHS1 ^b	1
Other, no. (%)	2 (9.5)
SMARCAL1	1
UMOD	1

επιλεγμένο ανάλογα με τον φαινότυπο της νόσου “**phenotype first approach**”

π.χ. σε νεφρωσικό σύνδρομο

σε πολυκυστική νόσο (σύμφωνα με τις νέες κλινικές οδηγίες)

“Panels can include coding regions of **all known PKD and ciliopathy genes (n~150)**
or **all known kidney disease genes (n~600)**”

Ανιχνεύεται μόνο όποια παραλλαγή βρεθεί στο επιλεγμένο πάνελ γονιδίων [χρειάζεται συνεχή ανανέωση της λίστας, ανάλογα με τα νέα ευρήματα]

NGS involves several major steps in sequencing

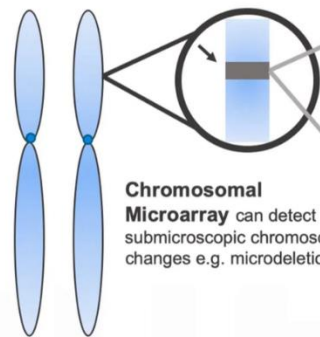
DNA fragmentation,

Library preparation,

Massive parallel sequencing,

Bioinformatics analysis, and

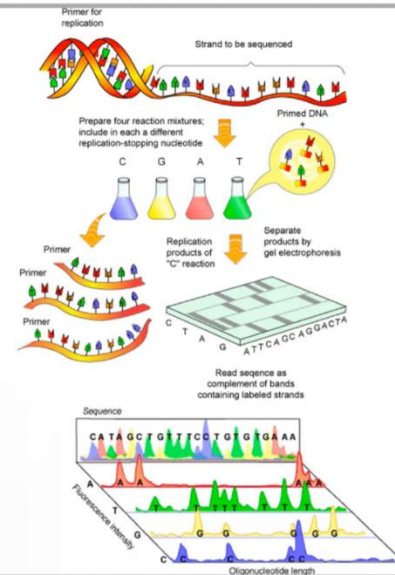
Variant / mutation annotation and interpretation.



Chromosomal Microarray can detect submicroscopic chromosomal changes e.g. microdeletion/duplication

Conventional karyotyping
Can detect gross chromosomal changes
e.g. trisomy, large insertion/deletion

Sequencing
Can detect variants at single nucleotide level



2. Αλληλούχηση όλων των εξωνίων [Whole exome sequencing (WES)]

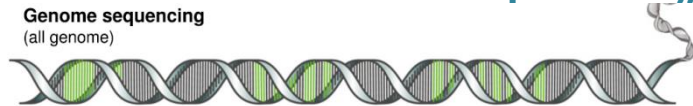
Καλύπτει όλες τις περιοχές του γονιδιώματος που κωδικοποιούν πρωτεΐνες



± **virtual gene panel**: «διάβασμα» σε τράπεζες βιο-πληροφοριών (bioinformatics) μόνο μιας επιλεγμένης λίστας γονιδίων (τα υπόλοιπα ευρήματα μένουν και μπορούν να επανα-αξιολογηθούν).

3. Whole genome sequencing (WGS)

Αλληλούχηση όλου του γονιδιώματος (και των περιοχών που κωδικοποιούν και αυτών που δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες)



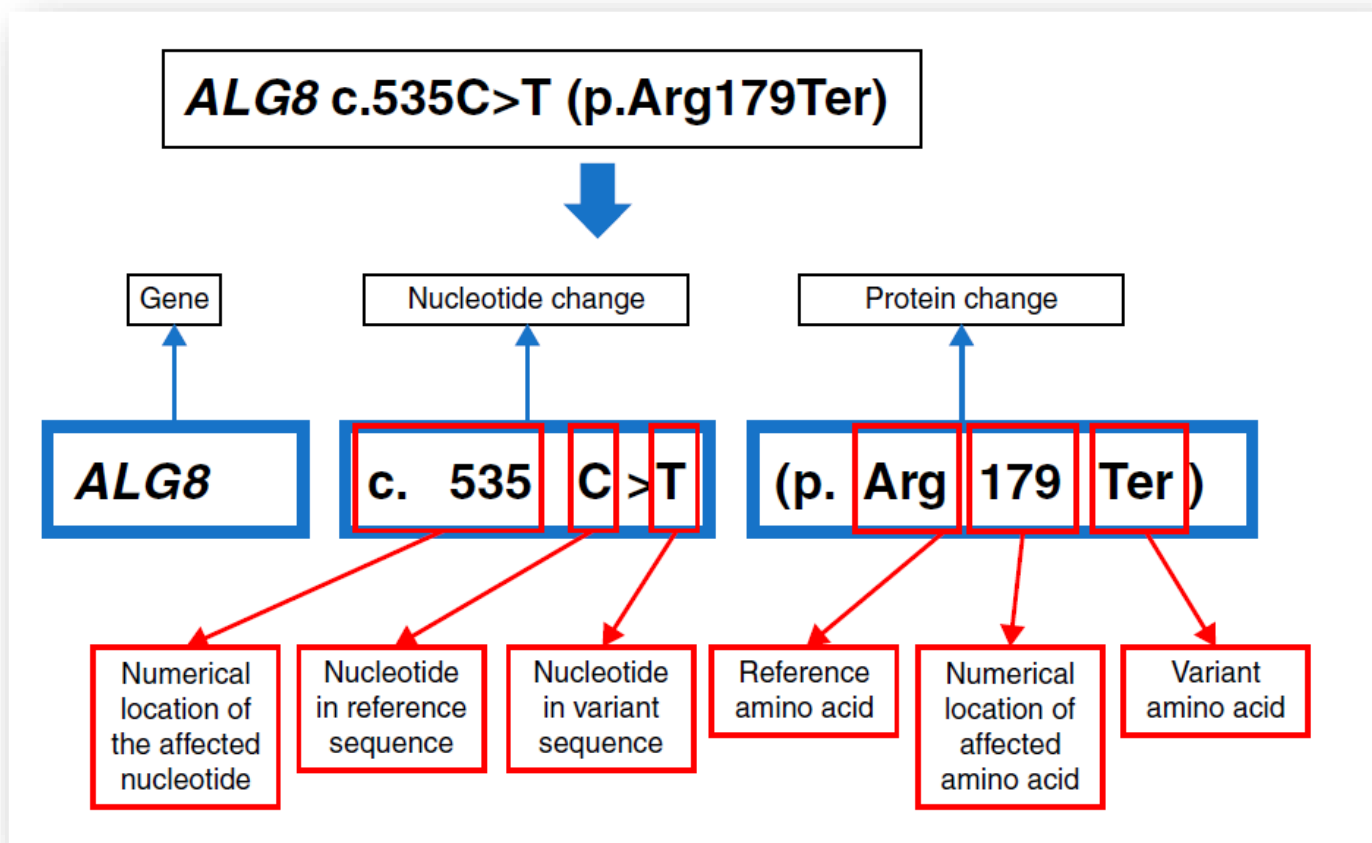
Μέθοδοι ανίχνευσης μεγάλης έκτασης αλλαγών στο DNA

Chromosomal microarrays

Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)

Η ονοματολογία μιας γενετικής παραλλαγής

Κάθε ένας από τους 64 πιθανούς συνδυασμούς 3 νουκλεοτιδίων (μεταξύ Adenine, Thymine, Guanine, Cytosine) κωδικοποιεί 1 από τα 20 διαφορετικά αμινοξέα ή ένα **κωδικόνιο τερματισμού**.



Types of variants resulting from single or small oligonucleotide variants

Variant Type	Definition	Nucleotide Change	Coding DNA Nomenclature "c. prefix"	Protein Nomenclature "p. prefix"	Comments	Implication
Substitution (synonymous) Συνώνυμη	Single nucleotide substitution resulting in unchanged AA	<p><u>ATG</u> <u>AGA</u> (ref)</p> <p>c. 1 2 3 4 5 6</p> <p>Met Arg</p> <p>p. 1 2 ↓</p> <p><u>ATG</u> <u>AGG</u> (var)</p>	c.6A>G	p.Arg2= or p.Arg2Arg	<ul style="list-style-type: none"> 6th nucleotide adenine changed to guanine Variant occurs at 2nd codon; both AGA and AGG encode arginine to the protein sequence is not affected 	No change in AA; likely benign unless near splice junction
Substitution (missense) Παρερμηνεύσιμη	Single nucleotide substitution changing AA	<p><u>ATG</u> <u>AGA</u></p> <p>↓</p> <p><u>ATG</u> <u>ATA</u></p>	c.5G>T	p.Arg2Ile	<ul style="list-style-type: none"> 5th nucleotide guanine changed to thymine 2nd codon encoded arginine, but variant encodes isoleucine (Ile) 	AA changed; potentially pathogenic if significant change in important AA
Substitution (nonsense) Ανερμηνεύσιμη	Single nucleotide substitution creating a stop codon	<p><u>ATG</u> <u>AGA</u></p> <p>↓</p> <p><u>ATG</u> <u>TGA</u></p>	c.4A>T	p.Arg2Ter or p.Arg2X	<ul style="list-style-type: none"> 4th nucleotide adenine changed to thymine 2nd codon encoded arginine, but variant encodes a premature stop codon 	Truncated protein; pathogenic in majority of disease mechanisms

Types of variants resulting from single or small oligonucleotide variants

Variant Type	Definition	Nucleotide Change	Coding DNA Nomenclature "c. prefix"	Protein Nomenclature "p. prefix"	Comments	Implication
Insertion/deletion (frame shift)	Insertion or deletion of # nucleotides (# ≠ multiple of 3)	<p><u>ATG</u> AGA <u>CAG</u> T Met Arg Gln</p> <p>↓ ↗</p> <p><u>ATG</u> <u>GAC</u> <u>AGT</u> Met Asp Ser</p>	c.4delA	p.Arg2fs	<ul style="list-style-type: none"> 4th nucleotide adenine is deleted A resultant shift in the reading frame no longer encodes the intended protein and by chance will reach a stop codon 	Truncated/altered protein; all AAs distal to frame shift are changed; pathogenic in majority of disease mechanisms
Insertion/deletion (nonframeshift)	Insertion or deletion of # nucleotides (# = multiple of 3)	<p><u>ATG</u> AGA <u>CAG</u> Met Arg Gln</p> <p>↓ ↗</p> <p><u>ATG</u> <u>CAG</u> Met Gln</p>	c.4_6delAGA	p.Arg2del	<ul style="list-style-type: none"> 4th through 6th nucleotides are deleted, causing loss of the Arg but no frameshift 	AA deleted; potentially pathogenic if critical AA
Substitution (splice variant)	Single nucleotide substitution	<p><u>AAG</u>gtaatt... Lys intron</p> <p>↓ ↗</p> <p><u>AAG</u>ttaatt... Lys intron</p>	c.21 + 1G>T		<ul style="list-style-type: none"> 1st intronic nucleotide (guanine) is changed to a thymine; no protein consequence is defined given intronic variant 	Truncated protein expected; splice site abolished if first or second intronic base is modified; pathogenic in majority of disease mechanisms

Πλαισιοτροποποιητική

Εντός πλαισίου ανάγνωσης

Παραλλαγή θέσης ματίσματος

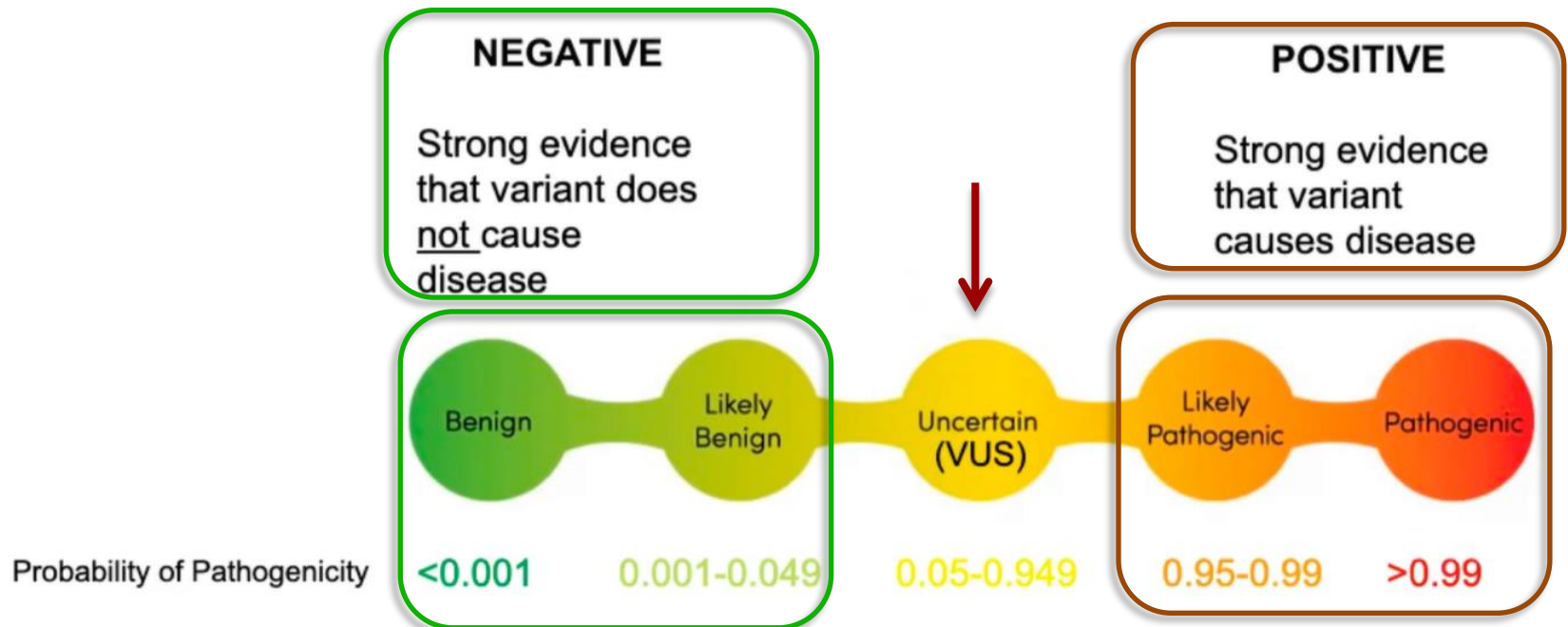
Η ερμηνεία μιας γενετικής παραλλαγής

Η γενετική παραλλαγή που εντοπίζεται στο γονίδιο που διερευνάται, συγκρίνεται με τα στοιχεία μεγάλων βάσεων δεδομένων (bioinformatics analysis) και καθορίζεται

- Πόσο σπάνια είναι στο γενικό πληθυσμό και σε εθνικές ομάδες και
- Αν προηγουμένως είχε συσχετιστεί με συγκεκριμένη νόσο
- Βρίσκεται η **MAF (Minor Allele Frequency)**, η συχνότητα που το συγκεκριμένο αλληλίο εντοπίζεται σε ένα δεύτερο άτομο. Συχνότητα > 1% θεωρείται κοινή.
- Όσο πιο σπάνια είναι η παραλλαγή, τόσο πιο πιθανή είναι η **παθογονικότητα** της (μόνο αυτές αναφέρονται στη γενετική έκθεση) [Genome Aggregation Database (**gnomAD**)]

Π.χ. ειδικά για την ADPKD με επιπολασμό 1: 1000 άτομα, η συχνότητα μιας γενετικής παραλλαγής > 0.01% θεωρείται πολύ κοινή.

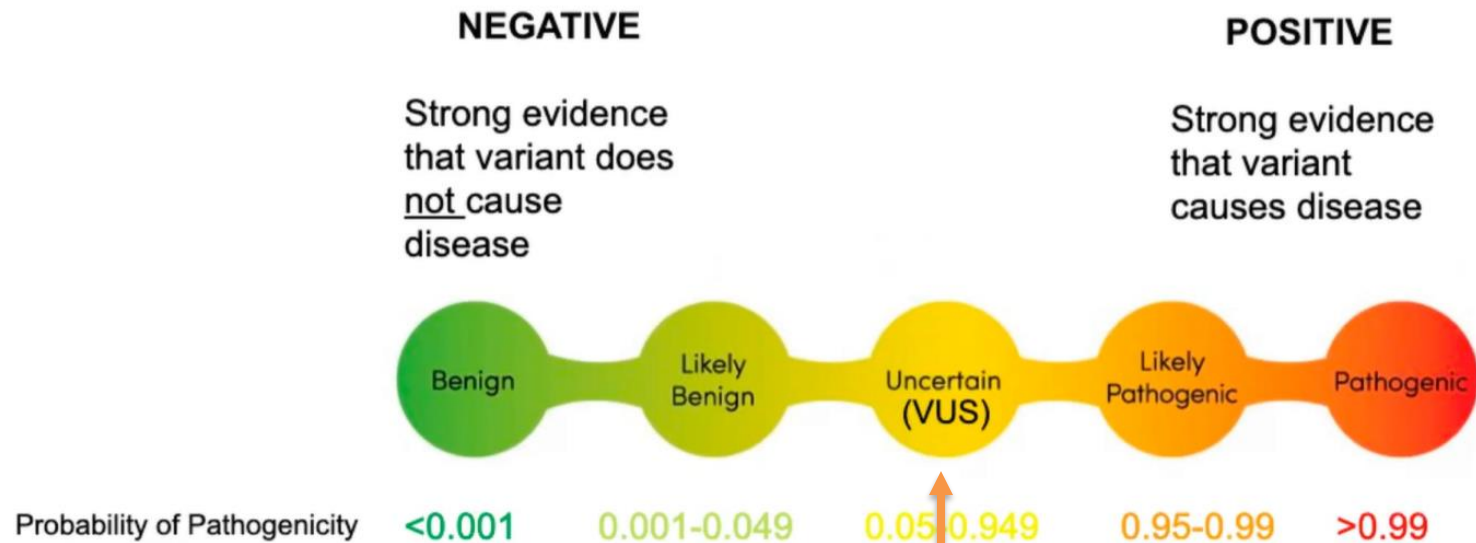
Variant Classification



Truncating versus Nontruncating protein: Σημαντική διαφορά.

- ✓ Μια “**truncating variant**” αναμένεται να παράγει μια πρωτεΐνη που δεν είναι λειτουργική και η οποία θα αποδομηθεί.
- ✓ Μια “**non-truncating variant**” θα παράγει μια ολόκληρη πρωτεΐνη που μπορεί να είναι λειτουργική ή μη-λειτουργική ή μερικώς λειτουργική ή να λειτουργεί διαφορετικά από το αναμενόμενο (gain of function)
- Μια “**truncating variant**” χαρακτηρίζεται άμεσα ως παθογενετική ή πιθανά παθογενετική
- Αντίθετα μια “**non-truncating variant**” πρέπει προηγουμένως να έχει αναφερθεί ως αιτία για τη νόσο, να βρεθεί σε άλλα μέλη της οικογένειας με τη νόσο ή με βιολογικές δοκιμασίες να έχει συνδεθεί με τη νόσο (να μην είναι απλά μια Variance of Unknown Significance, VUS)

Variant Classification



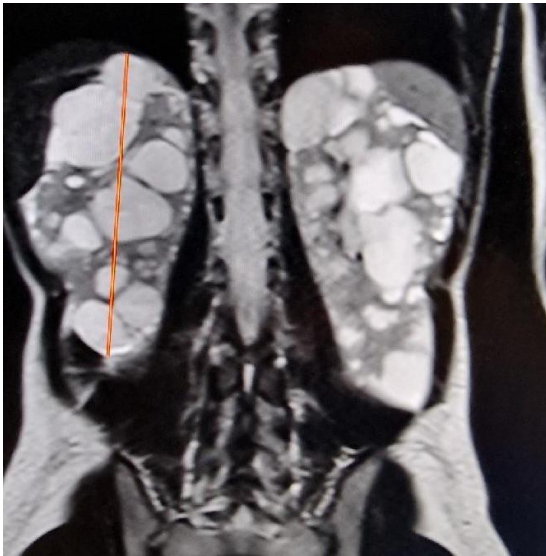
The scary world of variants of uncertain significance (VUS): A hitchhiker's guide to interpretation

VUS, Variant of Unknown Significance

Ο γιατρός δε μπορεί να βασιστεί σε ένα VUS για να λάβει μια κλινική απόφαση

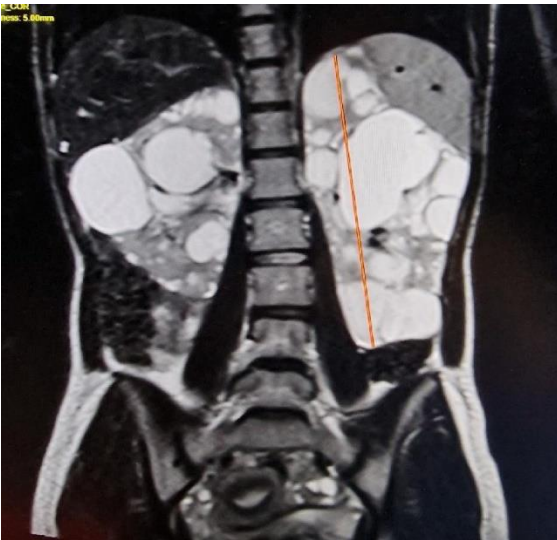
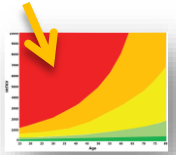
Έχει σημασία εάν

- Ο φαινότυπος στον ασθενή είναι ο αναμενόμενος για τον VUS γονότυπο που εντοπίστηκε
- Βρέθηκε η ίδια παραλλαγή σε άλλα μέλη της οικογένειας με τον ίδιο φαινότυπο
- Η παραλλαγή επηρεάζει καίριο σημείο για τη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης
- Είναι **αρκετά σπάνια** στο γενικό πληθυσμό (< 0,01 % για την ADPKD)
- Είναι **σύνηθες** για τη νόσο να προκαλείται από πολύ σπάνιες – καταστροφικές παραλλαγές;
 - Π.χ. στην ADPKD το 35% περίπου των non-truncating παραλλαγών χαρακτηρίζονται ως VUS
 - **Ειδικά** λοιπόν όταν ο γενετικός έλεγχος ζητείται για την ADPKD καλό είναι στην έκθεση του γενετιστή να αναφέρονται και οι τυχόν οι VUS παραλλαγές.



Γυναίκα, 24 ετών (2019)
Σε ηλικία 18 ετών: πολλαπλές νεφρικές κύστεις (Echo)
Μητέρα, 55 ετών, Echo(-) για νεφρικές κύστεις,
Πατέρας, 58 ετών, Echo(-) για νεφρικές κύστεις

MRI (24 ετών)
Total Kidney Volume: **1485 ml (873 ml/m),**
1E
e-GFR: 98 ml/min
ESCKD prediction (Mayo Clinic Formula): **13 έτη**
Έναρξη Tolvaptan



Γενετικός έλεγχος (Next generation sequencing σε πάνελ γονιδίων)

Η νουκλεοτιδική παραλλαγή **c.3161+5G>C** στο εσώνιο **13** του γονιδίου **PKD1**, (**NM_00296**),
Θεωρείται αβέβαιης κλινικής σημασίας (Variant of Uncertain Significance, **VUS**)

MRI (27 ετών) μετά 3 έτη σε Tolvaptan
Total Kidney Volume: **1522 ml (895 ml/m), [+37ml αντί του αναμενόμενου +225 ml], 1E**, e-GFR: 97 ml/min
ESCKD prediction (Mayo Clinic Formula): **16 έτη**
e-GFR: 97 ml/min (2024, 5 έτη σε Tolvaptan)

2024: επαναξιολόγηση της παθογονικότητας της παραλλαγής του γονιδίου PKD1

Rules for combining criteria to classify sequence variants (Table 3)

Pathogenic	(i) 1 Very strong (PV51) AND
	a) ≥1 Strong (PS1–PS4) OR
	b) ≥2 Moderate (PM1–PM6) OR
	c) 1 Moderate (PM1–PM6) and 1 supporting (PP1–PP5) OR
	d) ≥2 Supporting (PP1–PP5)
	(ii) ≥2 Strong (PS1–PS4) OR

Likely pathogenic	(i) 1 Very strong (PV51) AND 1 moderate (PM1–PM6) OR
	(ii) 1 Strong (PS1–PS4) AND 1–2 moderate (PM1–PM6) OR
	(iii) 1 Strong (PS1–PS4) AND ≥2 supporting (PP1–PP5) OR
	(iv) ≥3 Moderate (PM1–PM6) OR
	(v) 2 Moderate (PM1–PM6) AND ≥2 supporting (PP1–PP5) OR
	(vi) 1 Moderate (PM1–PM6) AND ≥4 supporting (PP1–PP5)

Benign	(i) 1 Stand-alone (BA1) OR
	(ii) ≥2 Strong (BS1–BS4)

Likely benign	(i) 1 Strong (BS1–BS4) and 1 supporting (BP1–BP7) OR
	(ii) ≥2 Supporting (BP1–BP7)

Uncertain significance	(i) Other criteria shown above are not met OR
	(ii) the criteria for benign and pathogenic are contradictory

	Supporting	Moderate	Strong
		Absent in population databases PM2	Prevalence in affecteds statistically increased over controls PS4
3	Multiple lines of computational evidence support a deleterious effect on the gene /gene product PP3	Novel missense change at an amino acid residue where a different pathogenic missense change has been seen before PM5	Same amino acid change as an established pathogenic variant PS1
7		Protein length changing variant PM4	
	Missense in gene with low rate of benign missense variants and path. missenses common PP2	Mutational hot spot or well-studied functional domain without benign variation PM1	Well-established functional studies show a deleterious effect PS3
	Cosegregation with disease in multiple affected family members PP1	Increased segregation data	
		De novo (without paternity & maternity confirmed) PM6	De novo (paternity and maternity confirmed) PS2

Έλεγχος ελλειμμάτων και διπλασιασμών (multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA) σε PKD1-PKD2 : αρνητικός

- η παραλλαγή c.3161+5G>C του γονιδίου *PKD1* **δεν ανιχνεύθηκε στα δείγματα περιφερικού αίματος των γονέων**
- η παραλλαγή **δεν έχει ανιχνευθεί σε υγιή άτομα** σύμφωνα με τη βάση δεδομένων gnomAD v4.0,
- τα *in silico* προγράμματα εκτίμησης παθογονικότητας (spliceAI and dbSCSNV) προβλέπουν ότι **η παραλλαγή θα έχει παθολογική επίδραση στην παραγόμενη πρωτεΐνη**

Η παραλλαγή c.3161+5G>C του γονιδίου *PKD1* χαρακτηρίζεται ως **πιθανώς παθολογική** σύμφωνα με τις συστάσεις του Αμερικάνικου Κολλεγίου Ιατρικής Γενετικής (**PS2, PP2, PP3 Moderate**).

Οφέλη γενετικής διάγνωσης για τη συγκεκριμένη ασθενή

Διάγνωση ακριβείας (+ διαφορική διάγνωση):
σε **de novo** εμφάνιση γενετικής παραλλαγής και νόσου

Πρόγνωση

PROPCKD score 4 [**ADPKD-PKD1 non-truncating**](ενδιάμεσος-χαμηλός κίνδυνος)

- σε ασθενή με φαινομενικά υψηλό κίνδυνο
- δεν υπάρχουν συγγενείς 1^{ου} βαθμού με την ίδια γενετική παραλλαγή

Οικογενειακός προγραμματισμός: γνωρίζει την γενετική παραλλαγή και μπορεί να αποφύγει την κληρονόμηση της στα παιδιά της

Δυνητική μεταμόσχευση νεφρού από τους γονείς της (αποδεδειγμένα δεν έχουν την γενετική παραλλαγή – νόσο)

“Take-Home points and Looking Ahead”

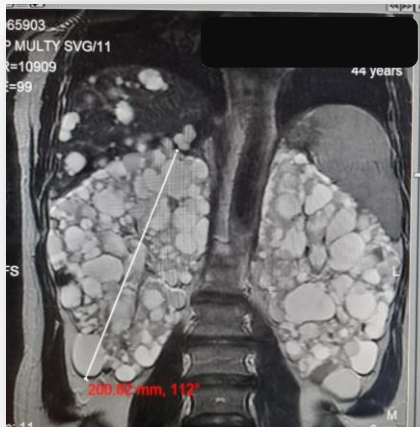
- Όσο αυξάνεται η κλινική χρήση του γενετικού ελέγχου, οι βάσεις δεδομένων θα εμπλουτίζονται με γενετικές παραλλαγές και τη κλινική τους αντιστοίχιση
- Αυτό θα έχει ως συνέπεια, οι παραλλαγές άγνωστης σημασίας (VUS) να τεκμηριώνονται προς τη σωστή κατεύθυνση συχνότερα
- Απαραίτητη, η εξοικείωση των κλινικών γιατρών με τις διαδικασίες
 - Τα VUS δεν πρέπει να υπερ-ερμηνεύονται. Τα περισσότερα θα αποδειχθούν αθώα (καθένας έχει πολλές γενετικές παραλλαγές) αλλά...αν βρεθούν σε γονίδια που έχουν σχέση με τον φαινότυπο, η επαναξιολόγηση τους μπορεί να έχει κλινική σημασία.
 - Η συζήτηση των ευρημάτων με γενετιστές ή έμπειρους στο θέμα κλινικούς είναι χρήσιμη

Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD)

(Πολυκυστική Νόσος των Νεφρών κληρονομούμενη με επικρατούντα χαρακτήρα, ΠΚΝ)

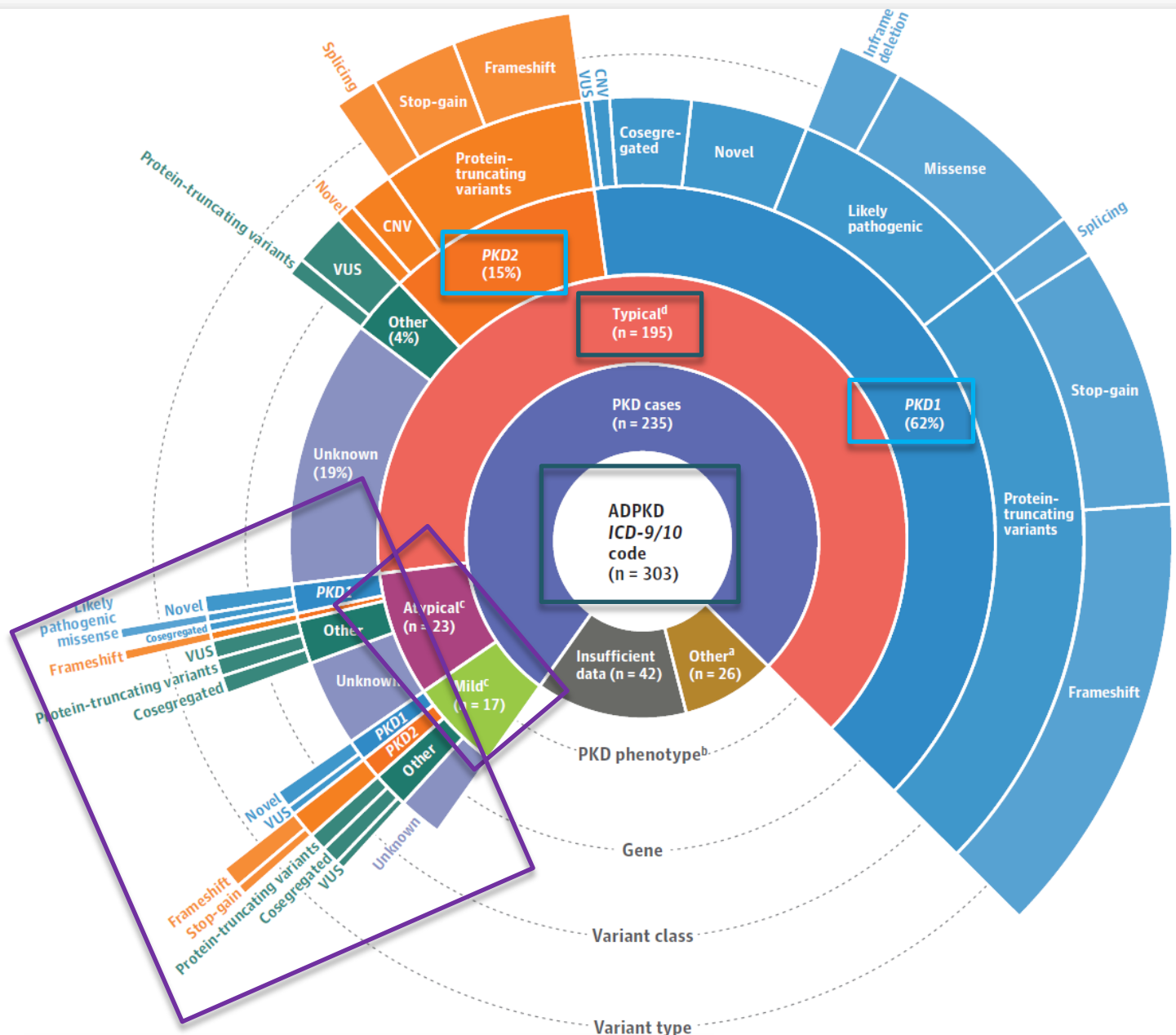
Ονοματολογία – Γονότυπος – Φαινότυπος – Κλινική πορεία - Πρόγνωση

Gene	% screened families	# of families *	Disease designation	Kidney phenotype	Extrarenal phenotype	Comments
Unknown/not screened			ADPKD	Bilateral PKD, kidney enlargement, age-related CKD, may result in KF	Liver cysts, including severe PLD, increased risk of ICA	A wide phenotypic range in terms of TKV and KF risk and timing
PKD1	~48%	>3250	Truncating pathogenic variant: ADPKD- <i>PKD1</i>	Bilateral PKD, early kidney enlargement, CKD G3, ~ 40 y, KF in 50s	Liver cysts, including severe PLD, increased risk of ICA	Includes some disease variability including a more benign course, sometimes associated with mosaicism
	~19%	>1750	Nontruncating pathogenic variant: ADPKD- <i>PKD1</i>	Bilateral PKD, kidney enlargement, age-related CKD, may result in KF	Liver cysts, including severe PLD, increased risk of ICA	Phenotype ranges from severe as <i>PKD1</i> truncating to mild PKD in old age, partly depending on the degree of residual protein function
PKD2	~15%	>1000	ADPKD- <i>PKD2</i>	Bilateral PKD, milder and later kidney enlargement, CKD G3, ~55 y, KF in 70s	Liver cysts, including severe PLD, increased risk of ICA	Includes some disease variability including a more severe or more benign course



Ονοματολογία – Γονότυπος – Φαινότυπος – Κλινική πορεία - Πρόγνωση

Gene	% screened families	# of families *	Disease designation	Kidney phenotype	Extrarenal phenotype	Comments
<i>ALG5</i>	<0.5%	<10	ADPKD- <i>ALG5</i>	Mild to moderate cyst development with limited kidney enlargement and fibrosis CKD and some KF in older subjects	A few liver cysts in a minority of people	
<i>ALG6</i>	<0.5%	<10	ADPKD- <i>ALG6</i>	Generally mild with or without preserved kidney function	Liver cysts including severe PLD	Can present as ADPLD. [‡]
<i>ALG8</i>	~1%	<40 [†]	ADPKD- <i>ALG8</i>	Generally mild cystic kidney disease with preserved function into old age	Liver cysts, including severe PLD. ICA risk unclear	Can present as ADPLD. <i>ALG8</i> is likely a low penetrant genotype. ^{5,11}
<i>ALG9</i>	<0.5%	<20	ADPKD- <i>ALG9</i>	Mild to moderate cystic disease with significant CKD in older people	Liver cysts are common	
<i>DNAJB11</i>	<0.5%	<30	ADPKD- <i>DNAJB11</i>	Bilateral small cysts, limited or no kidney enlargement, progressive fibrosis, limited CKD G3a <55 y, but KF in 70s	Liver cysts, usually mild, ICA and vascular risk is possible	ADPKD- <i>DNAJB11</i> has similarities to ADTKD, because of the small, fibrotic kidneys, but visible cysts are usually present
<i>GANAB</i>	<0.5%	<20	ADPKD- <i>GANAB</i>	Mild cyst development, limited CKD, no KF	Liver cysts, including severe PLD. ICA risk unclear	Can present as ADPLD
<i>IFT140</i>	1%–2%	<50	ADPKD- <i>IFT140</i>	Few, large bilateral cysts resulting in kidney enlargement, with kidney function usually preserved into old age	Liver cysts only rarely seen, with risk of ICA unclear	
<i>NEK8</i> [*]	<0.5%	<20	ADPKD- <i>NEK8</i>	Bilateral PKD, kidney enlargement, KF in childhood, occasionally later in cases of specific alleles and mosaicism	Liver cysts rare	De novo occurrence was reported in 75% of the published cases. [‡]
<i>PKHD1</i>	~1%	<50 [†]	ADPKD- <i>PKHD1</i>	Generally, very mild cystic kidney development with preserved function into old age	Liver cysts are common, and can be seen without kidney cysts	Biallelic pathogenic variants are associated with ARPKD. Can present as ADPLD. Monoallelic <i>PKHD1</i> is likely a low penetrant genotype. ⁵
Genetically unresolved by testing	~5%		ADPKD	Typically, mild cyst development with limited CKD and KF	Liver cysts	Most unresolved cases have relatively mild disease



Άνδρας 52 ετών

Διάγνωση νεφρικών – ηπατικών κύστεων σε ηλικία 40 ετών

Μητέρα: νεφρική + ηπατική κυστική νόσος, νεφρική λειτουργία κ.φ. μέχρι τα 65 έτη → κατέληξε εντός τριμήνου μετά από επιμόλυνση-ρήξη ηπατικών κύστεων-νεφρική ανεπάρκεια

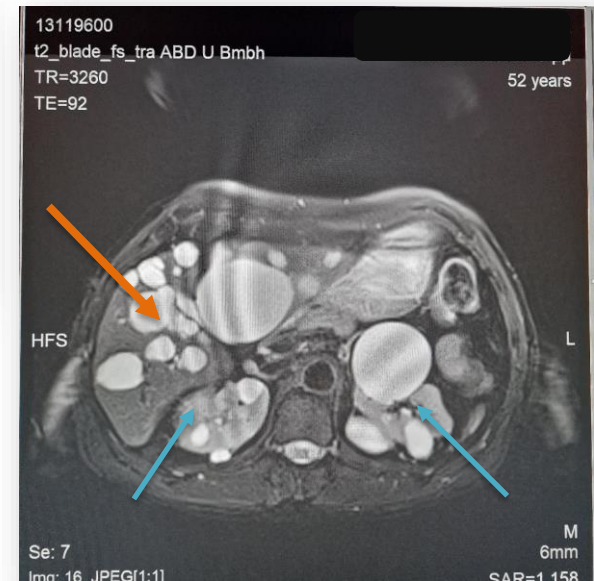
Συνολικός Όγκος Νεφρών 610 ml (270 ml φυσιολογικά), 1B κατά MCIC, e-GFR 90 ml/min

Αποτέλεσμα:

Από την ανάλυση ανιχνεύθηκε η παρακάτω νουκλεοτιδική παραλλαγή σε ετεροζυγωτία:

Γονίδιο	Γενομικές συντεταγμένες παραλλαγής	MAF*	Τύπος και κατάταξη**	Νόσημα (OMIM) και τρόπος κληρονομικότητας
GANAB	NM_198332.2:c.1895T>G p.(Met632Arg)	gnomAD: -	Παρερμηνεύσιμη Παραλλαγή πιθανώς παθολογική (Γάξη 4)	Πολυκυστική νόσος των νεφρών, 3 (600666) AD

Περιγραφή παραλλαγής βασισμένη στην HGNC. * Genome Aggregation Database (gnomAD) ** σύμφωνα με τις συστάσεις του Αμερικανικού Κολλεγίου Ιατρικής Γενετικής (ACMG).



Διάγνωση ακριβείας δηλωτική του φαινότυπου και της πρόγνωσης

ADPLD ή ADPKD - GANAB

Gene	% screened families	# of families *	Disease designation	Kidney phenotype	Extrarenal phenotype	Comments
GANAB	<0.5%	<20	ADPKD-GANAB	Mild cyst development, limited CKD, no KF	Liver cysts, including severe PLD. ICA risk unclear	Can present as ADPLD

Οικογένεια

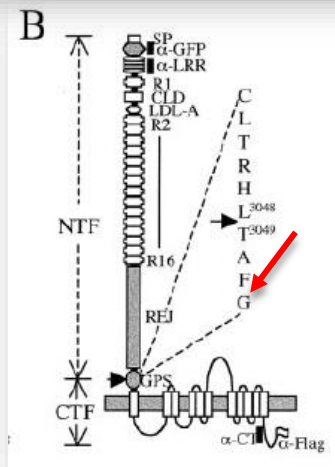
Πατέρας σε αιμοκάθαρση από ηλικίας 43 ετών λόγω ΠΚΝ

Τέσσερα παιδιά - κορίτσια, 16, 15 και 11 ετών (τα δυο τελευταία δίδυμα)

Πατέρας, γενετικό έλεγχο με Targeted next generation sequencing (t NGS) gene panel

Γονίδιο	Γενομικές συντεταγμένες παραλλαγής	MAF*	Τύπος και κατάταξη**
PKD1	NM_001009944.3:c.8311G>A p.Glu2771Lys rs1057518897	gnomAD: - 1000 G: -	Παρερμηνεύσιμη Παραλλαγή παθολογική (Τάξη 1)

Non-truncating variant
Που όμως προκαλεί
σοβαρή λειτουργική βλάβη στη Πολυκυστίνη-1
(G-protein coupled receptor proteolytic site)



Cleavage of polycystin-1 requires the receptor for egg jelly domain and is disrupted by human autosomal-dominant polycystic kidney disease 1-associated mutations

PNAS | December 24, 2002 | vol. 99 | no. 26 | 16981-16986

Δίδυμες, 11 ετών, Echo νεφρών φυσιολογικό

1^η [Sanger sequencing: στοχευμένη ανίχνευση] Στο υπό ανάλυση δείγμα **ΔΕΝ** ανιχνεύθηκε η μετάλλαξη c.8311G>A (p.Glu2771Lys) του **γονιδίου PKD1**

2^η [Sanger sequencing: στοχευμένη ανίχνευση] Στο υπό ανάλυση δείγμα **ΔΕΝ** ανιχνεύθηκε η μετάλλαξη c.8311G>A (p.Glu2771Lys) του **γονιδίου PKD1**.

Κορίτσι 16 ετών: Echo(+) για κύστεις από ηλικία 2 ετών, υπέρταση διαγνωσμένη στη πρώτη επίσκεψη (15 ετών) (Αγωγή με α-MEA)

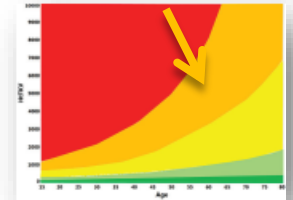


[Sanger sequencing]: **PKD1: c.8311G>A p.Glu2771Lys**
(ίδια μετάλλαξη με πατέρα)

Total Kidney Volume: **623 ml**,
1D

PROPKD: 6, Intermediate Risk (2 hypertension < 35, 2 PKD1 non-truncating), Πατέρας σε AMK σε ηλικία 42 ετών
e-GFR: 120 ml/min

Ένδειξη για Τολναρταν, μόλις γίνει 18 ετών



Κορίτσι 15 ετών: Echo (+) για νεφρικές κύστεις από ηλικία 8 ετών, Υπέρταση, διαγνωση+α-MEA σε ηλικία 15 ετών.

[Sanger sequencing] **Η ίδια μετάλλαξη με πατέρα και αδελφή : c.8311G>A (p.Glu2771Lys)**

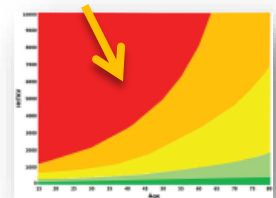


Total Kidney Volume: **657 ml**,
1E

e-GFR: 137 ml/min

ESCKD prediction (Mayo Clinic Formula): 25 έτη
PROPKD: 6, Intermediate Risk (2 hypertension < 35, 2 PKD1 non-truncating), Πατέρας σε AMK σε ηλικία 42 ετών

Ένδειξη για Τολναρταν, μόλις γίνει 18 ετών



Ο γενετικός έλεγχος στη συγκεκριμένη οικογένεια

ταυτοποίησε τη γενετική βλάβη (**διάγνωση ακριβείας**)

ADPKD-PKD1

Non-truncating (αλλά με σοβαρές συνέπειες)

βοήθησε στη **πρόγνωση (PKD1)** [**επιβαρυσμένη**]

βοηθά στη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων (**ταχέως εξελισσόμενη νόσος**)

απέκλεισε τη νόσο σε δυο μέλη της οικογένειας

- **ελεύθερος οικογενειακός προγραμματισμός**
- **δυσνητικές ζώσες δότες νεφρικού μοσχεύματος** για τα υπόλοιπα μέλη της οικογένειας

βοηθά στον **οικογενειακό προγραμματισμό** των δυο μελών της οικογένειας που έχουν τη νόσο

ADPKD-PKD1 (Cotransmission)

ADPKD-PKD1(T)

24

ADPKD-PKD1 (Truncating)

145

ADPKD-PKD1 (non-trunc)

ADPKD-PKD1 del(T)

ADPKD-PKD2

290

Practice Point 1.1.7:

People with ADPKD, families, healthcare providers, insurance companies, and others dealing with the welfare of the patient need to be educated about the significance of the ADPKD and ADPLD nomenclature.

Μέθοδοι γενετικού ελέγχου

Targeted next generation sequencing (t NGS) gene panel : κύρια μέθοδος

Sanger sequencing: στοχευμένη ανίχνευση ήδη γνωστής μετάλλαξης στην οικογένεια

Whole exome sequencing (WES) slice

Whole genome sequencing (WGS) slice

Multiplex ligation-dependent probe amplification (**MLPA**)

Για να τεθεί γενετική διάγνωση η μετάλλαξη πρέπει να έχει χαρακτηριστεί ως

Παθογενετική

Πιθανά παθογενετική

Σύμφωνα με τα κριτήρια του Αμερικάνικου Κολλεγίου Ιατρικής Γενετικής και Γονιδιώματος

Variants of uncertain significance (VUS) δεν υποστηρίζουν γενετική διάγνωση.

Situation	Genetic findings
Limited number of cysts	Positive result can show a genetic origin (minor gene or hypomorphic allele)
Variable disease severity in a family	Mosaicism or biallelic/digenic disease can explain some extreme variability
Atypical imaging, including asymmetric or unilateral disease	Positive result can show a genetic origin (mosaicism or minor gene involvement)
Discordance between structural (MIC) and functional (GFR) ADPKD severity*	Genetic testing may reveal an atypical form of the disease or additional genetic or contributory factors. Non-genetic factors may also be important.
Negative family history	Positive result can show a genetic origin (<i>de novo</i> mutation can be proven)
VEO-ADPKD	Biallelic disease may be found (Chapter 9)
Related living transplant donor (<30 years and/or a few cysts detected)	Genetic testing can exclude the familial variant and test for other genetic causes
Family planning and PGD	Obtaining a genetic diagnosis can aid family planning and enable PGD (Chapter 8)
All people	Genetics can confirm the diagnosis, identify the responsible gene and variant, and provide prognostic information

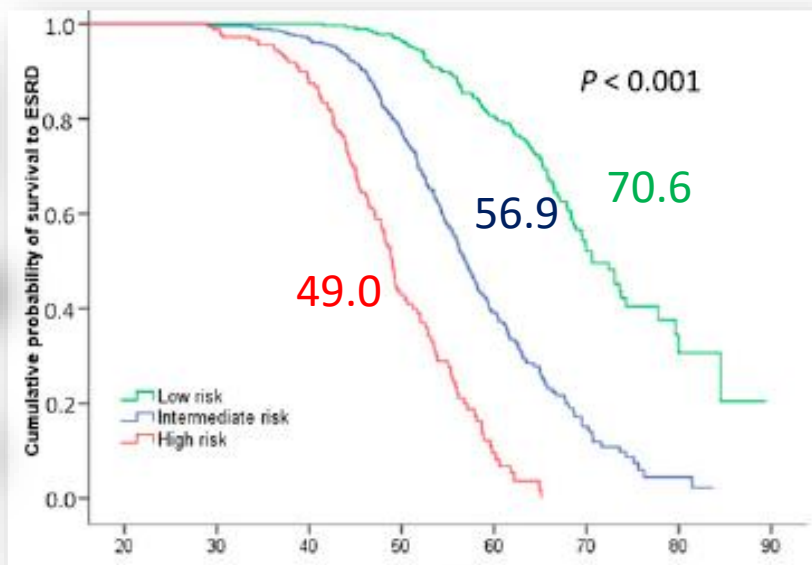
Practice Point 1.4.2.8: The Predicting Renal Outcome in Polycystic Kidney Disease (PROPKD) score can aid the identification of people with rapidly progressive disease over 35 years of age.

Variable	Patients (n)	HR (95% CI)	95% CI from Bootstrap Analysis	P Value	Points for PROPKD Score
Sex					
Female	541				0
Male	432	1.55 (1.29 to 1.88)	1.27 to 1.89	<0.001	1
Hypertension before age 35 yr					
No	679				0
Yes	294	2.11 (1.71 to 2.61)	1.71 to 2.62	<0.001	2
≥1 urologic event before age 35 yr					
No	734				0
Yes	239	1.73 (1.38 to 2.18)	1.35 to 2.24	<0.001	2
Mutation					
PKD2	186				0
PKD1 nontruncating	239	2.27 (1.57 to 3.28)	1.61 to 3.18	0.002	2
PKD1 truncating	548	4.75 (3.41 to 6.60)	3.63 to 6.60	<0.001	4

(gross hematuria, flank pain, or cyst infection)

The PROPKD Score: A New Algorithm to Predict Renal Survival in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease

1341 patients from the Genkyst cohort



The PROPKD score categorizes patients into **low risk** (0 to 3 points), **intermediate risk** (4 to 6 points), and **high risk** (7 to 9 points) for progression to ESKD,

J Am Soc Nephrol 27: 942-951, 2016

Άνδρας, 52 ετών με τυπικό φαινότυπο ADPKD, αρνητικό οικογενειακό ιστορικό

Γονίδιο	Γενομικές συντεταγμένες παραλλαγής	MAF*	Τύπος και κατάταξη**	Νόσημα (OMIM) και τρόπος κληρονομικότητας
<i>PKD1</i>	NM_001009944.3:c.10405+2T>G p.(?)	gnomAD: -	Θέση ματίσματος Παραλλαγή πιθανώς παθολογική (Τάξη 4)	Πολυκυστική νόσος των νεφρών (173900) AD

Substitution (splice variant) Single nucleotide substitution

Παραλλαγή θέσης ματίσματος

AAGgtaatt... c.21 + 1G>T
Lys intron

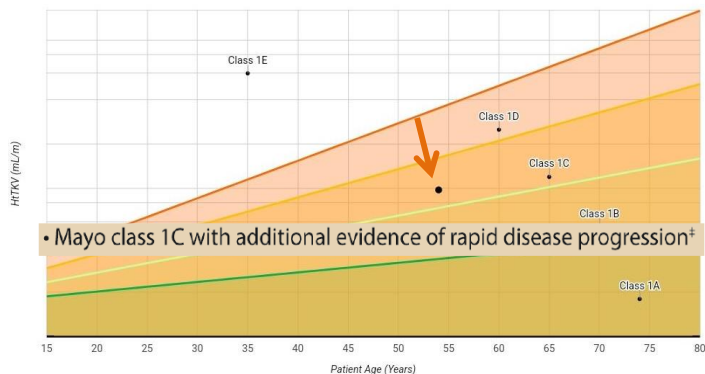
↓ ↗

AAGttaatt...
Lys intron

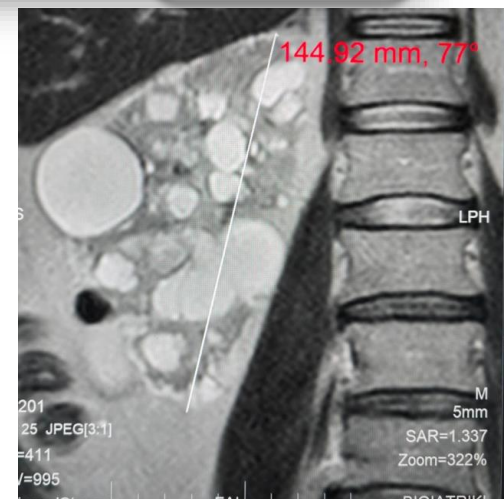
- 1st intronic nucleotide (guanine) is changed to a thymine; no protein consequence is defined given intronic variant

Truncated protein expected; splice site abolished if first or second intronic base is modified; pathogenic in majority of disease mechanisms

ADPKD – PKD1 (T – truncating)



- + ↓ e GFR διορθωμένο ηλικιακά (< 60 για 50-55 ετών)
- + PROPKD score > 6, 2 συγγενείς 1^{ου} βαθμού σε ΤΣΧΝΝ < 60 ετών



e – GFR 68 ml/min
De novo (χωρίς οικογ. Ιστορικό)
PROPKD: 8 (1 male+1 Hypert+4 Truncating)

(At risk of) rapid progression
Indication for treatment

Tolvaptan

Truncating

Γονίδιο	Γενομικές συντεταγμένες παραλλαγής	Συχνότητα αλληλομόρφων	Τύπος και κατάταξη παραλλαγής
<i>PKD1</i>	NM_001009944.3: c.11457C>G p.(Tyr3819Ter)	gnomAD*: -	Ανερμηνεύσιμη παραλλαγή Παθολογική παραλλαγή (Τάξης 5)

*Genome Aggregation Database (gnomAD).

Στο υπό ανάλυση δείγμα ανιχνεύθηκε επίσης η **νουκλεοτιδική παραλλαγή c.4787C>T (p.Thr1596Ile, rs758082560)** του γονιδίου *PKD1* σε **ετεροζυγωτία**. Η συγκεκριμένη παραλλαγή δεν έχει αναφερθεί μέχρι σήμερα σε πάσχοντα από διαταραχή συσχετιζόμενη με το γονίδιο *PKD1* στις συναφείς βάσεις δεδομένων (ClinVar, dbSNP) και στη διεθνή βιβλιογραφία. Θεωρείται παραλλαγή αβέβαιης κλινικής σημασίας (Τάξης 3) **[VUS]** σύμφωνα με τις συστάσεις του Αμερικανικού Κολλεγίου Ιατρικής Γενετικής.

Γυναίκα **21 ετών**, [ADPKD-PKD1-T]

Πατέρας **41 ετών σε AMK**, απεβίωσε **52 ετών λόγω ΑΕΕ**

2 ετών Echo (+) για νεφρικές κύστεις

Από **12 ετών υπέρταση** + ACEIs

e – GFR 84 ml/min

PROPKD score: 8 (2 HTN, 2 Urologic Events, 4 PKD1-truncating)

TKV 640 ml, 1C, MRA εγκεφάλου (-)

PP3, moderate pathogenic, multiple lines of computational support
PM2, not found in gnomAD

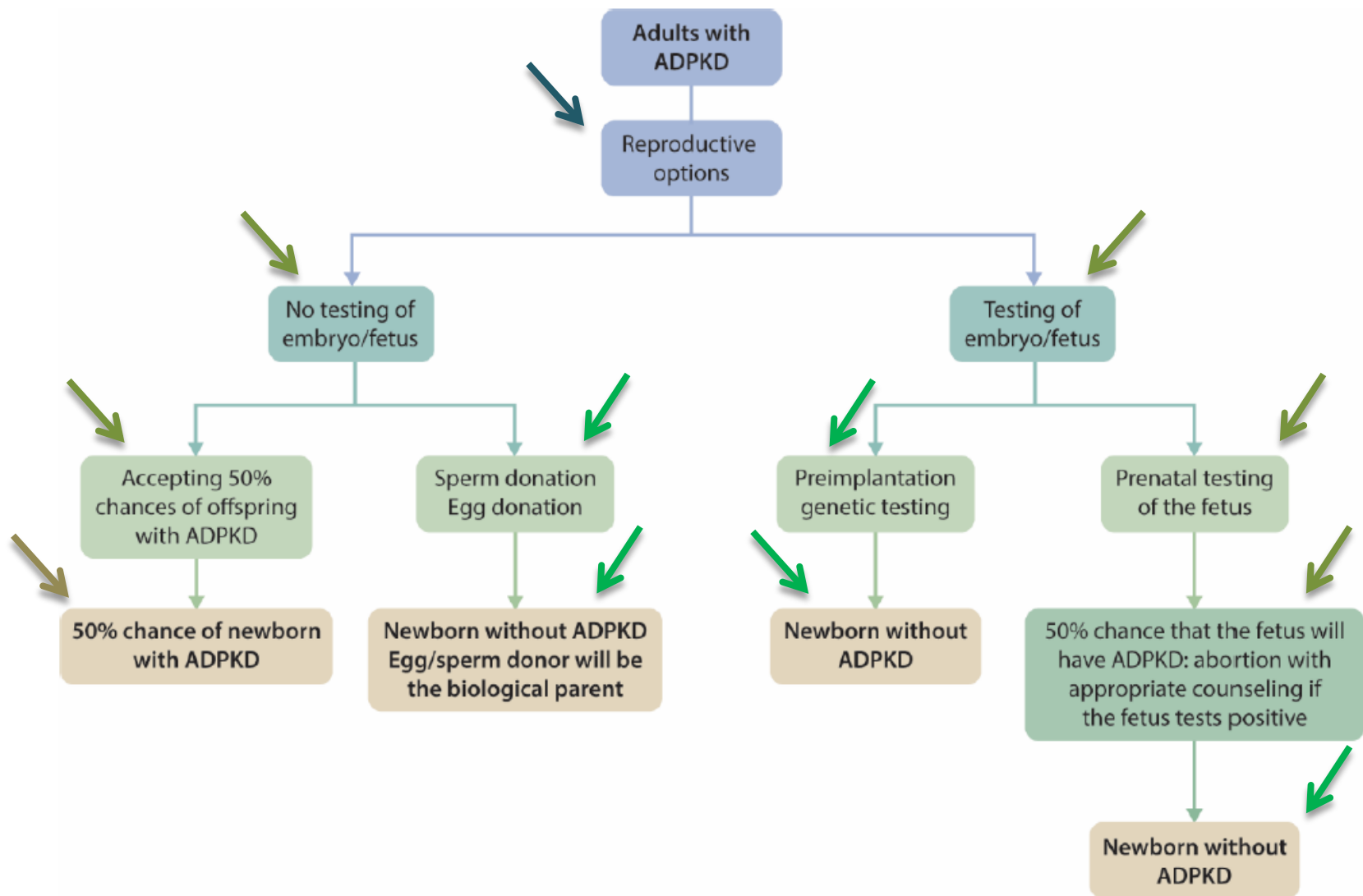
Τοιναρταν, υψηλού κινδύνου

Επαναξιολόγηση VUS σε δεύτερο χρόνο

Πιθανή αθροιστική δράση VUS με την παθογενετική (truncating) παραλλαγή: επιθετικός φαινότυπος + επιβαρυσμένο οικογενειακό ιστορικό)



Reproductive Options for ADPKD (νέα KDIGO) – γενετικός έλεγχος



Gene editing

World's first **CRISPR** medicine approved in **UK** for **sickle cell, beta thalassemia**

FDA clears first **CRISPR** treatment for a second disease, **beta thalassemia**

Transfusion independence occurred in **20 of 22 patients** who could be evaluated (91%)
N Engl J Med 386;5



1 SEARCH
A CRISPR molecule finds a precise location in the target DNA.

2 CUT
The CRISPR enzyme cuts the target DNA at the point found by the guide.

3 EDIT
A new custom sequence can be added when the DNA is repaired.

CRISPR/Cas9

DNA editing

PRECISION GENE REPAIR

Uditi's genetic disorder, FENIB, was the result of a single-base mutation in the *SERPIN1* gene. Researchers aimed to use an adeno-associated virus (AAV) to deliver the instructions for a CRISPR-Cas9 base editor that could fix the mutation in brain cells.

