

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**

**2. LÉKAŘSKÁ FAKULTA**

**MUDr. FILIP FENCL**

**KORELACE GENOTYPU A FENOTYPU U DĚTÍ S AUTOZOMÁLNĚ  
DOMINANTNÍM POLYCYSTICKÝM ONEMOCNĚNÍM LEDVIN**

Dizertační práce

Praha 2009

**OBSAH**

<b>A SOUČASNÝ MODEL ADPKD</b>	4
<b>1 Úvod</b>	4
2 Genetika	5
2.1 Geny PKD1, PKD2	5
2.2 Polycystin 1	6
2.2.1 Struktura, funkce	6
2.2.2 Lokalizace	7
2.3 Polycystin 2	8
2.3.1 Struktura, funkce	8
2.3.2 Lokalizace	9
<b>3 Cystogeneze</b>	11
3.1 Buněčná proliferace a hyperplázie tubulárních renálních buněk	11
3.1.1 Polycystin 1 a polycystin 2 jako součást ciliárních struktur	13
3.2 Abnormální interakce buňka-matrix a buňka-buňka	14
3.2.1 Interakce buňka-buňka	14
3.2.2 Interakce buňka-matrix	14
3.3 Exkrece tekutiny	15
<b>4 Klinická manifestace</b>	17
4.1 Věková distribuce symptomů	17
4.2 Symptomatologie ADPKD dle orgánových systémů	18
4.2.1 Ledviny a močové cesty	18
4.2.2 Hypertenze	19
4.2.3 Kardiovaskulární symptomy kromě hypertenze	20
4.2.4 Extrarenální cystické postižení	21
4.2.5 Postižení pojiva	22
4.2.6 Metabolické symptomy	22
4.2.7 Další symptomy	22
4.2 Zahraniční studie zaměřené na prevalenci symptomů	23
4.3 Dosud publikovaná data z českého registru dětí s ADPKD	23
<b>5 Korelace genotyp-fenotyp u dospělých s ADPKD</b>	25
<b>6 Diagnostika</b>	28
6.1 Klinická diagnostika	28
6.2 Molekulárně genetická diagnostika	28
<b>7 Diferenciální diagnostika ADPKD</b>	31
7.1 Diferenciální diagnostika obecně	31

7.2 Diferenciální diagnostika mezi ARPKD a ADPKD	32
<b>8 Prognóza</b>	34
8.1 Velmi časná manifestace ADPKD	34
8.2 Manifestace ADPKD v dětství a v dospělosti	36
<b>9 Faktory ovlivňující progresi ADPKD</b>	39
9.1 Zárodečné mutace v PKD1/ PKD2	39
9.2 Typ mutace v PKD1 a PKD2	39
9.3 Model druhého zásahu, haploinsuficience, trans-heterozygotní model	40
9.3.1 Model druhého zásahu	40
9.3.2 Haploinsuficience	42
9.3.3 Trans-heterozygotní model	42
9.4 Modifikující geny	42
9.4.1 Geny ovlivňující hypertenzi	43
9.4.2 Ostatní modifikující geny	44
9.5 Vlivy prostředí	45
<b>10 Terapie</b>	46
10.1 Terapie komplikací	46
10.2 Moderní kauzální terapie	47
<b>11 Shrnutí, cíle studie</b>	51
<b>12 Literatura</b>	53
<b>B STUDIE KORELACE GENOTYP-FENOTYPU U DĚTÍ S ADPKD</b>	61
<b>1 Úvod, formulace zadání studie</b>	61
<b>2 Studie korelace genotypu a fenotypu u dětí s ADPKD</b>	62
<b>3 Výsledky</b>	73
<b>4 Diskuze, závěry</b>	77
<b>C SEZNAM PŘÍLOH</b>	81
<b>D PŘÍLOHY</b>	82
<b>Příloha 1</b>	82
<b>Příloha 2</b>	86

## A SOUČASNÝ MODEL ADPKD

### 1 ÚVOD

Autozomálně dominantní polycystické onemocnění ledvin (autosomal dominant polycystic kidney disease = ADPKD) je nejčastějším geneticky podmíněným onemocněním ledvin. Incidence je v různých zdrojích uváděna v rozmezí 1:500 až 1:1000 (1, 2), postihuje všechny rasy, postižena jsou obě pohlaví. ADPKD je charakterizována progresivním cystickým postižením ledvin, které vede k postupnému zhoršování renálních funkcí a k chronickému selhání ledvin (CHSL) v dospělosti, kdy představuje významnou příčinu CHSL. K CHSL dochází nejčastěji v 5. až 6. deceniu, přibližně 50% pacientů dospěje do CHSL do 60 let věku (3). 77% pacientů zemře nebo dosáhne konečného stádia CHSL (end-stage renal disease = ESRD) do věku 70 let. 5-10% dospělých pacientů v chronickém dialyzačním programu selhává na podkladě ADPKD (4). V dětství dochází k CHSL raritně. Další běžné renální komplikace představují hypertenze, proteinurie, hematurie, infekce močových cest. ADPKD je však multisystémovým onemocněním postihujícím mnoho orgánů. Extrarenální komplikace zahrnují kardiovaskulární systém, gastrointestinální systém, reprodukční systém a postižení pojivové tkáně – nečastějšími jsou abnormality srdečních chlopní, aneurysmata arteriálního řečiště CNS, cysty jater, pankreatu a sleziny, epididymální cysty, hernie břišní stěny (5).

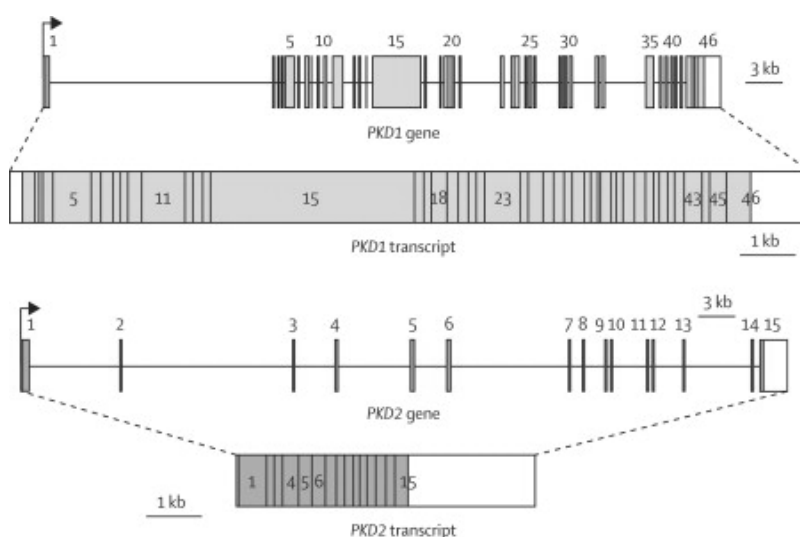
ADPKD je způsobena mutací v jednom ze dvou známých genů – PKD1 (85% pacientů), PKD2 (14% pacientů). Předpokládaný třetí gen PKD3 (cca 1% pacientů) dosud nebyl lokalizován (6-9). Produktem genů PKD1 a PKD2 jsou polycystin 1 a 2 – transmembránové proteiny, které jsou součástí multimerických membránových proteinových komplexů účastnících se buněčné adheze a přenosu signálů.

Řada studií u dospělých pacientů prokázala, že pacienti s mutací v genu PKD2 mají lepší prognózu než pacienti s mutací v genu PKD1 (10). Průměrný věk ESRD nebo úmrtí byl 53 let u PKD1 a 69 let u PKD2, průměrný věk pouze ESRD byl 54 let u PKD1 a 74 let u PKD2. Pacienti s PKD1 měli 4x vyšší prevalenci arteriální hypertenze (11). Počet cyst a objem cyst je větší u pacientů s mutací PKD1 (12). Další studie prokazují, že symptomy ADPKD jako renální cysty, hypertenze nebo proteinurie mohou být pozorovány již v dětství, či dokonce již prenatálně (13, 14). Nicméně dosud nebyla provedena srovnávací studie mezi PKD1 a PKD2 pacienty v dětském věku. Proto bylo cílem naší práce porovnat klinické, sonografické a laboratorní nálezy u dětí s potvrzenou mutací v PKD1/ PKD2 genu.

## 2 GENETIKA

### 2.1 Geny PKD1, PKD2

Onemocnění je podmíněno mutací v jednom z genů PKD1 nebo PKD2, pravděpodobná je existence minimálně jednoho dalšího genu - PKD3. Historicky první byl lokalizován gen PKD1 do oblasti krátkého raménka 16. chromozomu (15). Lokalizace genu byla identifikována u rodiny s translokací 16. chromozomu – rozsáhlý gen PKD1 byl translokací půlen a členové rodiny s balancovanou translokací (a zároveň tedy s afunkčním rozděleným genem PKD1) měli ADPKD. Pozdější studie lokalizaci upřesnily lokus na 16p13.3 (2, 16, 17). Mutace v tomto genu je zodpovědná za onemocnění u 85% pacientů (18). V roce 1988 byla popsána rodina s klinickým obrazem autozomálně dominantní polycystózy bez vazby na 16. chromozom, gen byl původně označen jako non-ADPKD-1-locus gene a byl lokalizován na dlouhé raménko 4. chromozomu. Gen byl klonován a jeho lokalizace v roce 1996 upřesněna na 4q21-q23, zároveň byl označen jako PKD2 (2, 16, 19, 20). Mutace v této lokalizaci je podkladem 15% onemocnění ADPKD. U malého počtu rodin nebyla nalezena vazba ani na jeden z genů PKD1/ PKD2. V současnosti se proto předpokládá existence minimálně ještě jednoho dalšího genu – PKD3, který by měl být zodpovědný cca za 1% ADPKD. Přes probíhající intenzivní výzkum v této oblasti však dosud nebyl lokalizován (6-9, 21). PKD1 gen se skládá ze 46 exonů, pokrývá 52 kb genomové DNA, která kóduje 14 kb mRNA transkript o délce 12 909 nukleotidů (17, 22). Exony 1-32 jsou navíc v několika kopiích (minimálně 6) přítomny proximálně na 16. chromozomu, jejich mRNA vykazuje 97% homologii s genem PKD1. PKD2 gen má podstatně jednodušší charakteristiku. Je složen z 15 exonů o délce genomové sekvence 68 kb. Transkribuje se do 5,4 kb mRNA obsahující 2904 nukleotidů (17, 22) (obr. č. 1).

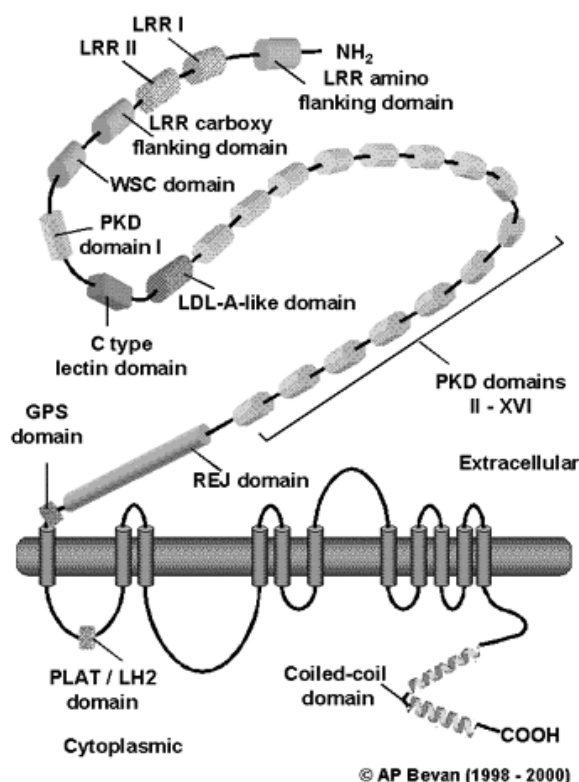


Obr. č. 1: Struktura genu PKD1 a PKD2 a jejich transkriptů

## 2.2 Polycystin 1

### 2.2.1 Struktura, funkce

Genovým produktem PKD1 genu je integrální membránový protein polycystin 1 obsahující 4303 aminokyselin (462 kDa), složený z extracelulárního N-terminálního konce (3000 AK), 11 transmembránových domén (1000 AK) a intracelulárního C-terminálního konce (225 AK) (2, 17, 22-25). Rozložení polycystinu 1 bylo odvozeno pomocí použití různých protilátek a analýzou cDNA PKD1 genu (obr. č. 2).



Obr. č. 2: Struktura polycystinu 1 (převzato z [www.nature.com](http://www.nature.com))

N-terminální část obsahuje oblasti bohaté na leucin a cystein, kalcium dependentní C-type lektinové domény, 16 imunoglobulinových repetitiv (PKD domény) (26, 27), doménu LDL receptoru (LDL-A doména), v blízkosti membrány se nachází důležitá proteolytická oblast – tzv. GPS doména. V této extracelulární oblasti je lokalizována i tzv. REJ doména – potenciální regulační místo celé molekuly (předpokládá se regulační role pro transport iontů) (25, 28, 29). Funkce mnoha domén je dosud nejasná, nicméně některé extracelulární motivy, které jsou v kontaktu s desmosomy (30), svědčí pro schopnost polycystinu 1 interagovat s extracelulární matrix a membránovými proteiny, předpokládá se i receptorová funkce pro dosud neidentifikované ligandy. Extracelulární část polycystinu 1 je tedy nezbytná pro interakce buňka-buňka a buňka-matrix.

Intracelulární oblasti obsahují mnoho domén schopných fosforylace a hrají významnou roli v přenosu signálu. Tato oblast je schopna vazby a aktivace heterotrimerického G-proteinu (31), inhibice degradace regulátoru G-proteinu RGS7 (a tím zvyšuje tvorbu cAMP - význam intracelulární koncentrace cAMP pro cystogenezu bude popsán níže) (32). Pro zajímavost – gen pro RGS7 je

mapován do stejné chromozomální oblasti jako jeden z modifikujících lokusů u myšího modelu polycystické choroby ledvin. Některé studie dokonce naznačují, že celý polycystin 1 je schopen chovat se jako G protein uvolňující beta a gama podjednotku a aktivující alfa podjednotku. Tato signalizační cesta je inhibována polycystinem 2.

Polycystin 1 se tak účastní řady signálních cest ovlivňujících buněčný cyklus, diferenciaci, proliferaci a apoptózu buněk. Ve zmíněné regulaci buněčného cyklu polycystin 1 aktivuje p21 (inhibitor cyklin dependentní kinázy 2) a inhibuje tak přechod G0 do G1 fáze buněčného cyklu. Polycystin 2 při této inhibici funguje jako kofaktor polycystinu 1 (33). Tato funkční souvislost obou polycystinů se však týká řady případů buněčné signalizace – viz níže.

Intracelulární část polycystinu 1 je také schopna aktivovat Wnt signální cestu (34), což vede ke stabilizaci beta kateninu (protein vázající se na E-kadherin, signální komponenta dráhy Wnt), který ovlivňuje další transkripční faktory uplatňující v expresi dalších genů – např. protoonkogenu c-myc (jeho exprese je u ADPKD zvýšena).

Na základě imunohistochemických a funkčních studií bylo odvozeno, že polycystin 1 je součástí velkých komplexů obsahujících široké spektrum proteinů účastnících se interakcí buňka-matrix (alfa2 beta 1 integriny, focal adhesion complexes) a interakcí buňka-buňka (E-kadherin-beta-kateninové komplexy - E-kadherin a katenin jsou adhezní proteiny, které mají přímý vztah k aktinovým proteinům buňky) (35-37). Pro umístění polycystinu 1 a E-kadherinu v buněčné membráně je důležitá správná funkce tumor supresorového genu TSC2 a jeho produktu tuberinu. Význam tuberinu v patogenezi ADPKD je diskutován níže.

C-terminální konec polycystinu 1 také prostřednictvím proteinkinázy C a c-Jun N-terminální kinázy aktivuje transkripční faktor AP-1 a tím ovlivňuje diferenciaci, proliferaci a apoptózu buněk (38, 39).

Význam polycystinu 1 pro vývoj řady orgánových systémů byl ověřen na zvířecím modelu knock-outovaných myší s deficitem funkčního proteinu – docházelo k úmrtím prenatálně nebo brzy po porodu, byla přítomna řada abnormalit zahrnující srdce, cévy, ledviny, pankreas, hypoplázie plic (nevyskytovaly se však hepatální cesty), skelet (40-42). Do věku zhruba 15,5 dne byl však u těchto myší zaznamenán normální vývoj ledvin. To svědčí pro úlohu polycystinu 1 ve vývoji a udržování architektury tubulů (což je ve shodě s jeho lokalizací) - spíše než pro indukci nefronů. U takto mutovaných myší byla také prokázána porucha ciliárních funkcí (43). Polycystin 1 má význam i pro integritu cév (44).

### 2.2.2 Lokalizace

Pomocí mono- a polyklonálních protilátek byla prokázána exprese polycystinu 1 během vývoje v mnoha epitelových buňkách – ledviny, játra, pankreas, plíce, střevo, mléčná žláza, reprodukční orgány i v neepitelových buňkách – hladká (cévy) i příčně pruhovaná svalovina (kosterní svalovina, srdce), endotel, neurony, endokrinní buňky, keratinocyty (45) (46-48). V játrech byl polycystin 1 prokázán v cholangiocytech. Jeho exprese je tedy zjišťována i ve tkáních u pacientů

s ADPKD nepostižených (například maximum exprese u dospělých pacientů je v mozku). U myši je nalézána vysoká exprese PKD1 v buňkách hladkých svalů cév a v chrupavce (41). Polycystin 1 byl prokázán v oblasti mezibuněčných spojů, v oblasti kontaktu buňka-matrix (tzv. focal adhesion complexes), nejnověji také v ciliárních strukturách na apikálním povrchu renálních tubulárních buněk (viz dále) (43, 49).

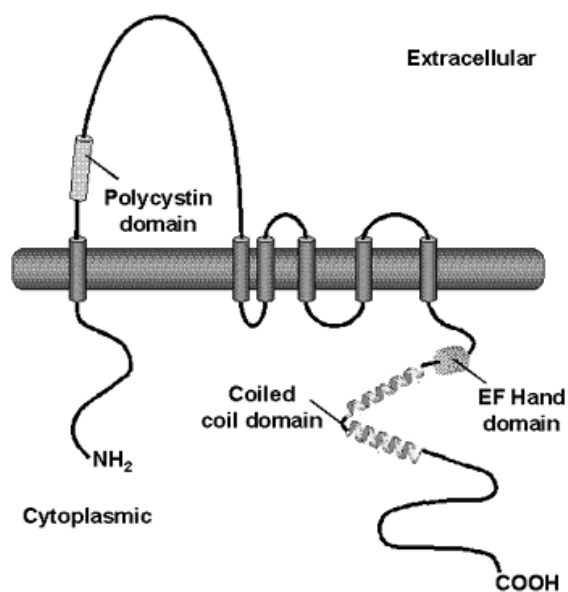
Při vývoji ledvin je exprese polycystinu 1 prokazatelná od 10. týdne, maximum jeho exprese je v bazální části buněk ledvin (interakce buňka-matrix). Polycystin 1 byl také identifikován na povrchu ureterálního pupenu, kde má jeho přítomnost význam pro vývoj ledvin a močových cest. Nickel et al. dokumentovali, že C-konec polycystinu 1 spouští větvení a migraci buněk sběrných kanálek a in vitro podporuje formaci tubulů (50). Jeho exprese je při vývoji ledvin vysoká v tubulárních epiteliálních buňkách (51-55).

U dospělých je polycystin 1 v ledvinách exprimován méně než v průběhu vývoje (což také ukazuje na jeho funkci při vývoji ledvin) a maximum exprese je naopak na apikální a laterální stěně buněk v oblasti sběrných kanálek a distálních tubulů (interakce buňka-buňka) (56-58).

## 2.3 Polycystin 2

### 2.3.1 Struktura, funkce

Polycystin 2 složený z 968 aminokyselin je analogicky produktem genu PKD2 (molekulová hmotnost 110 kDa), jedná se rovněž o transmembránový protein. N-terminální konec (224 AK) i C-terminální konec (288 AK) jsou však na rozdíl od polycystinu 1 uloženy intracelulárně, střed (450 AK) představuje 6 transmembránových úseků (2, 17, 22) (obr. č. 3).



Obr. č. 3: Struktura polycystinu 2 (převzato z [www.nature.com](http://www.nature.com))

Vlastní transmembránová oblast je homologní s polycystinem 1. C-terminální konec obsahuje několik motivů typických pro proteiny vázající kalcium. Polycystin 2 je částečně homologní s neselektivním napětově řízeným kalciovým kanálem (podjednotka alfa1 Ca<sup>++</sup> kanálu - patří do tzv.



TRP (transient receptor potencial) superrodiny  $\text{Ca}^{++}$  kationtových kanálů) a zvyšuje membránovou permeabilitu pro  $\text{Ca}^{++}$  (19, 59-63). Rovněž vykazuje homologii s  $\text{Na}^{+}$  napětově řízeným kanálem. Bylo prokázáno, že polycystin 2 zvyšuje intracelulární koncentraci  $\text{Ca}^{++}$  jeho uvolňováním z intracelulárních zásob jako odpověď na mechanické stimuly (prostřednictvím pasivního pohybu cílů – viz dále) a také na některé hormonální stimuly. Polycystin 2 je součástí řady intracelulárních signalizačních cest, často ve spolupráci s polycystinem 1. Pro funkční souvislost obou polycystinů svědčí i průkaz vzájemných interakcí mezi jejich C-terminálními konci (C-terminální konec polycystinu 1 interaguje přes alfa-helikální doménu s oblastí C-terminálního konce polycystinu 2) uloženými intracelulárně – mohou se tedy pravděpodobně účastnit i společné signalizační cesty (64-67). Na základě těchto interakcí a funkce polycystinu 2 jako iontového kanálu je odvozována pro polycystin 1 možnost jeho funkce jako regulátoru tohoto iontového kanálu (68).

U polycystinu 2 byly zaznamenány interakce s TRPC-1 kanálem (neselektivní kalcium vázající iontový kanál částečně homologní s polycystinem 2 – viz výše). Polycystin 2 může také aktivovat AP-1 závislou genovou transkripci. Dále byla zjištěna vazba polycystinu 2 a Hax-1 proteinu, který je ve spojení s aktinem buňky (tudíž vztah mezi polycystinem 2 a cytoskeletem) (69). Ve vývojově zaměřených studiích byla prokázána vazba polycystinu 2 s CD2 proteinem, který přispívá k diferenciaci epitelových buněk ledviny ve stadiu metanefros.

Stejně jako u polycystinu 1 byly také u polycystinu 2 prováděny pokusy na knock-outovaných myších modelech – a stejně jako v prvním případě i u polycystin 2 deficitních myší byla zaznamenána úmrtí prenatálně či brzy po porodu a byly u nich zaznamenány vrozené vady – srdeční (zejména poruchy tvorby septa), ledvinné a pankreatické cesty. Polycystin 2 hraje také roli v determinaci pravolevé osy u myší (70). Stejně jako u polycystinu 1 byla na myším modelu prokázána porucha ciliárních funkcí (43). Fetotypicky se tedy deficit polycystinu 1 a 2 na myším modelu liší.

### 2.3.2 Lokalizace

Polycystin 2 byl nalezen podobně jako polycystin 1 v mnoha tkáních. V ledvině je exprese nejvyšší ve vzestupném raménku Henleovy kličky, v distálních a sběrných tubulech. Byla rovněž prokázána exprese polycystinu 2 v cholangiocytech. Na rozdíl od polycystinu 1 je exprese polycystinu 2 velmi nízká v centrálním nervovém systému (71). Polycystin 2 je lokalizován zejména v membráně endoplazmatického retikula, v menším množství je histochemicky prokazován i v plazmatické membráně (zejména bazolaterálně) (58, 72). Polycystin 1 je k plazmatické membráně pravděpodobně přenášen v přítomnosti polycystinu 2. Nově je polycystin 2 prokazován stejně jako polycystin 1 v tzv. primárních ciliích na apikálním povrchu renálních epitelů (viz dále) (43, 49).

V dospělosti je polycystin 2 v ledvině exprimován více než polycystin 1. V experimentu bylo prokázáno zvýšení jeho exprese v epitelích proximálního tubulu po akutním ischemickém poškození – z toho je dovozován jeho pravděpodobný význam pro udržení vzájemného kontaktu mezi buňkami.

Zhao et al. dokumentovali expresi PKD1 a PKD2 ve zdravých ledvinách v ADPKD ledvinách (73). Ve všech vzorcích ledvin byla prokázána koordinovaná exprese PKD1 i PKD2. Distribuce

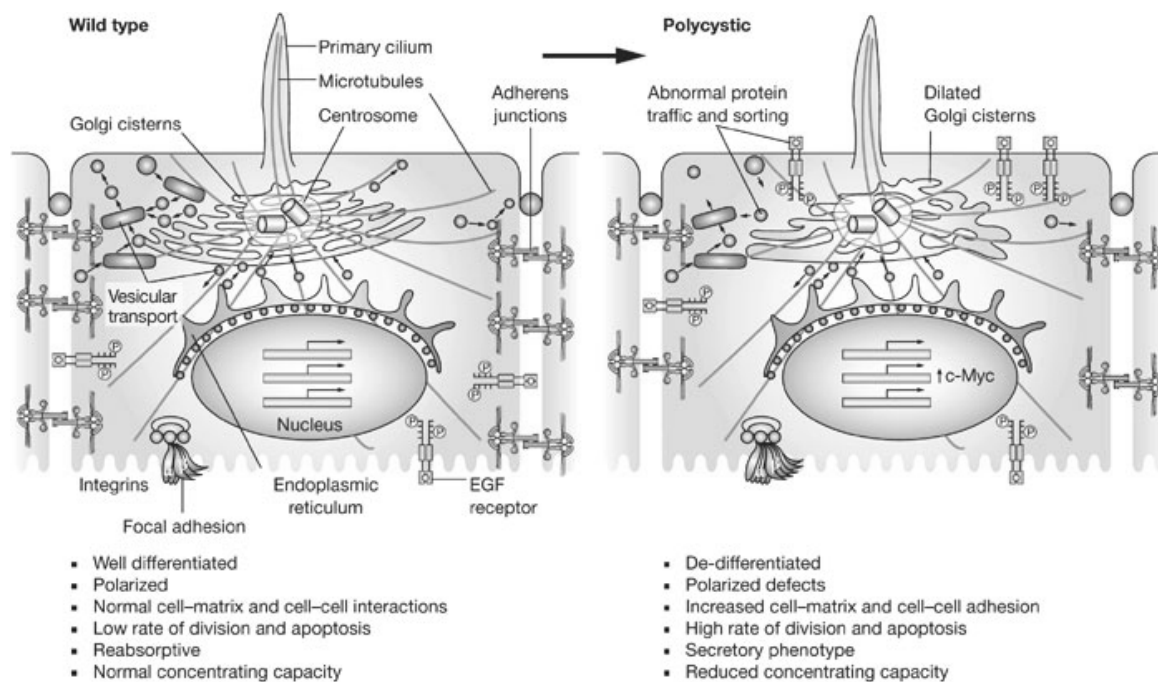
mRNA PKD1 i mRNA PKD2 a jejich proteinů polycystinu 1 a 2 je ve zdravé ledvině nejvyšší ve dřeňových sběrných kanálcích a distálních tubulech. Exprese byla prokázána také ve většině epitelí vystylajících cysty u PKD1. Úroveň jejich exprese v epitelích ledvinných cyst u ADPKD byla výrazně vyšší než buňkách renálních tubulů zdravých ledvin.

Další studie zaměřené na expresi polycystinu 1 jsou ve shodě s tímto nálezem - zhruba ve 20-30% cyst se nedaří polycystin 1 prokázat, ve zbývajících cystách je naopak nalézána jeho nadprodukce (51, 56). Předpokládá se, že zvýšená exprese polycystinu 1 může být dána akumulací abnormálního proteinu, případně může být projevem buněčné dediferenciace (74).

### 3 CYSTOGENEZE

Vlastní tvorba cyst je komplexní proces, ve kterém se uplatňují genetické vlivy i vlivy prostředí, které mohou ovlivňovat četnost somatických mutací i přímo progresi cyst. Cysty u pacientů s ADPKD vznikají z libovolné části nefronu, většina cyst má však svůj původ v proximálním tubulu. V dalším vývoji většina cyst ztrácí kontinuitu s mateřským nefronem a pokračuje v expanzi (v pokročilé fázi onemocnění nebyla prokázána kontinuita s mateřským nefronem u 75% cyst) (22). Cystické přeměně podléhá v průběhu života podle různých prací maximálně 5% nefronů, některé práce však uvádí tento počet dokonce pod 1% (75).

Cystogeneze zahrnuje 3 základní kroky: buněčnou proliferaci a hyperplázii tubulárních renálních buněk, abnormální interakce buňka-matrix a buňka-buňka a exkreci tekutiny. Proces cystogeneze je spojen s obrazem buněčné dediferenciace (zahrnujícím zvýšenou proliferační aktivitu, zvýšenou apoptózu, jiné uspořádání proteinů (včetně membránových) vedoucí k jiným transportním vlastnostem membrány a buňky, dezorganizaci extracelulární matrix) (76, 77) (obr. č. 4).



Obr. č. 4: Schematické znázornění procesů odehrávajících se v renálních tubulárních buňkách u ADPKD (převzato z [www.nature.com](http://www.nature.com))

V současnosti se při tvorbě cyst přikládá velký význam aberantnímu monoklonálnímu růstu spouštěnému somatickou mutací zbývající divoké kopie PKD1/ PKD2 genu v epiteliálních buňkách (tzv. model druhého zásahu) (78).

#### 3.1. Buněčná proliferace a hyperplázie tubulárních renálních buněk

Tubulární hyperplázie je základní podmínkou vzniku renálních cyst. V matematických modelech simulujících růst cyst bylo prokázáno, že plošná expanze určitých segmentů tubulární stěny v důsledku větší masy epiteliálních buněk je základní podmínkou vzniku cyst.

Renální epitelie pacientů s ADPKD podléhají rychlejší obměně (vyšší proliferativní aktivita buněk, kratší životnost, četnější apoptóza) ve srovnání s epitelii zdravých jedinců. Tato skutečnost byla prokázána použitím monoklonálních protilátek proti PCNA (proliferating cell nuclear antigen – protein charakterizující S fázi mitózy), jehož exprese je epitelii ADPKD pacientů zvýšena (79). Zároveň je vyšší exprese protoonkogenů c-myc a c-fos. Podstatná je skutečnost, že tento zvýšený proliferativní index byl zjištěn nejen u buněk již existujících cyst, ale i u epitelii dosud normálních tubulů. To znamená, že celulózní hyperplázie předchází tvorbě cyst (79).

Na zvýšené proliferaci renálních epitelových buněk se podílí cAMP a epidermal growth factor receptor (EGFR) se svými odpovídajícími ligandy zahrnujícími epidermal growth factor (EGF) a transforming growth factor alpha (TGF $\alpha$ ).

cAMP, který za normálních podmínek funguje jako inhibitor buněčného dělení, u ADPKD naopak zvyšuje proliferaci buněk (v experimentu byl na epitelii cyst po stimulaci cAMP pozorován růst buněk, zatímco v buňkách zdravých ledvin je růst epitelii inhibován). Studium řady stimulatorů adenylátcyklázy (adrenalin, arginin, vyzopresin, adozin, prostaglandin E<sub>2</sub>, parathormon) na vzorcích z nefrektomií pacientů s ADPKD byla prokázána upregulace produkce cAMP, což vede následně k aktivaci extracelulárně regulované proteinkinázy a zvýšené buněčné proliferaci (80-82).

Zároveň EGF stimuluje proliferaci aktivací extracelulárně regulované proteinkinázy (tyrozinkinázová cesta). Byla rovněž prokázána vysoká koncentrace EGF a EGF-like peptidů v tekutině cyst, upregulace receptoru pro EGF a jeho abnormální lokalizace na luminální části membrány buněk (i v této lokalizaci je EGFR funkční a schopný přenášet mitogenní signály) (83-86). Pro významnou roli EGFR pro cystogenezi svědčí výsledky dosažené v experimentu – podávání inhibitorů tyrozinkinázy spojené s EGFR nebo genetické manipulace EGFR vedou u zvířecích modelů nemoci k významné redukci tvorby cyst a zpomalení jejich expanze. Stejně tak byly u ADPKD potvrzeny i vyšší hladiny TGF $\alpha$  (87). Na apikálním povrchu epitelálních buněk byly také nalezeny receptory, které se za normálních okolností exprimují pouze během vývoje (např. PAX2).

Kromě dysregulace proliferace byl také popsán druhý mechanismus buněčné hyperplázie - zvýšená apoptóza renálních epitelových buněk. Byla studována řada látek účastnících se procesu apoptózy – zejména kaspázy a bcl-2/bax rodina proteinů. Na myším modelu ARPKD (cpk myši) byla pozorována zvýšená aktivita kaspázy 3 a 4 (88), na modelu ADPKD (Han/SPRD křesy) byla pozorována zvýšená aktivita kaspázy 3 (89). Zatímco řada studií lokalizuje zvýšenou apoptotickou aktivitu do oblasti tubulárních epitelii, studie Ali et al. ji prokazuje primárně do intersticia (buňky intersticia obklopující cysticky přeměněné sběrací kanálky ledvin). Tyto výsledky naznačují možný podíl ztrát normálního ledvinného parenchymu ledvin a tím usnadněné tvorby cyst na progresi ADPKD (90).

Zároveň byla prověřována role antiapoptotické molekuly bcl-2 a proteiny s ní související. U bcl-2 deficitních myší se rozvíjí těžká multicystická hypoplázie charakteristická tvorbou cyst proximálních a distálních tubulů a hyperproliferací epitelii a buněk intersticia. Naproti tomu byla u

zvířecích modelů ADPKD i ARPKD shodně pozorována zvýšená exprese bcl-2. Další studie prokazuje sníženou expresi jiné antiapoptotické molekuly – Bcl-X(L). Zdá se tedy, že spíše než absolutní hladiny jednotlivých signalizačních molekul účastnících se procesu apoptózy je pro rozvoj ADPKD a ledvinných cyst podstatná jejich vzájemná dysbalance.

Do procesu apoptózy zasahují také protoonkogeny, jejichž exprese je u ADPKD také abnormální. U zvířecího modelu ARPKD a v lidských ledvinách postižených ADPKD byla potvrzena zvýšená exprese protoonkogenu c-myc a její souvislost s buněčnou hyperproliferačí a zvýšením apoptózy. Podobná role u ADPKD byla také pozorována u pax2 molekuly.

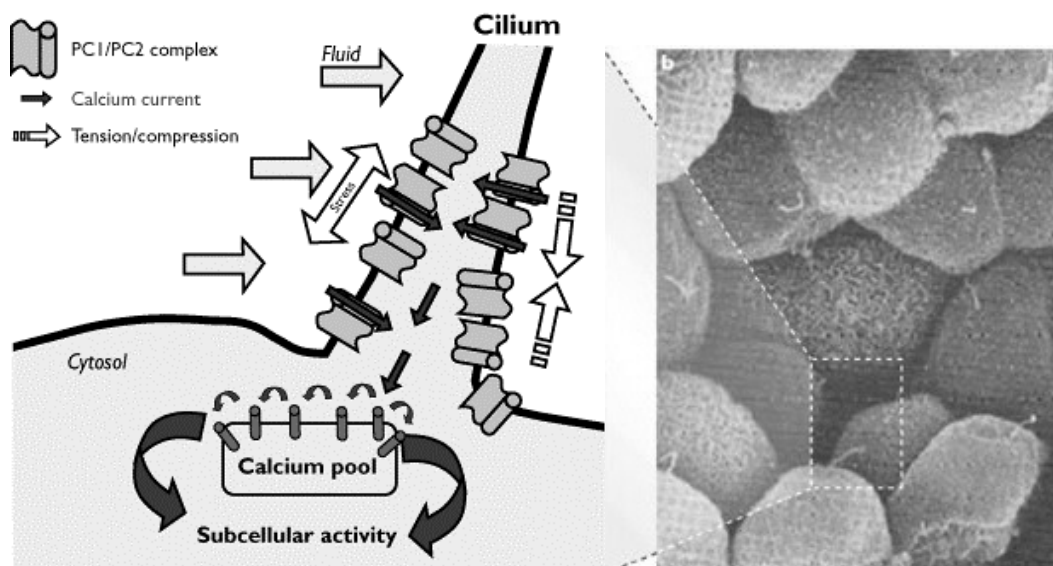
Dalším známým významným faktorem vedoucím k buněčné hyperplázii je mechanické napětí ve stěně tubulu/ cisty vznikající při sekreci tekutiny do jejich lumina. Samotná buněčná hyperplázie a také zbytky nekrotických buněk uvolňující se do lumina tubulu mohou vést k jeho parciální obstrukci, zvýšení intratubulárního tlaku stagnující tekutiny a tudíž dalšímu zvýšení mechanického napětí ve stěně tubulu.

### **3.1.1 Polycystin 1 a polycystin 2 jako součást ciliárních struktur**

Novým a velmi významným objevem posledních let je průkaz polycystinu 1 i polycystinu 2 v ciliárních (řasinkových) strukturách na povrchu epitelů vystýlajících renální tubuly. Tzv. primární cilia jsou solitární aktivně nepohyblivé struktury nacházející se na apikální povrchu každé epitelální buňky – tedy v lumen tubulů. Předpokládá se jejich funkce jako mechanoreceptoru (2, 49, 66, 91, 92). Tok tekutiny v tubulech vyvolává změnu polohy (ohyb) cilií, který je detekován extracelulární částí polycystinu 1. Ten následně prostřednictvím polycystinu 2 umožní influx kalcia do buňky. Zvýšením intracelulární koncentrace kalcia dojde k tzv. kalcium indukovanému uvolnění kalcia z endoplazmatického retikula a tím k aktivaci celé řady buněčných funkcí, které mimo jiné pomáhají udržovat buňku v diferencovaném stavu (43) (obr. č. 5). Tato signalizační cesta selhává u pacientů s mutací polycystinu 1 a polycystinu 2. Na zvířecím modelu bylo prokázáno, že nízká intracelulární koncentrace kalcia mění funkci cAMP z růstového inhibitoru na růstový stimulant prostřednictvím aktivace B-Raf/ERK signalizační cesty (93, 94).

Objevu obou polycystinů v ciliárních strukturách na apikálním povrchu epitelálních buněk tubulů v ledvinách a jejich významu ve výše popsaném signalizačním mechanismu je v současnosti připisována zcela zásadní role v patogenezi ADPKD prostřednictvím vlivu na buněčnou hyperplázii a diferenciaci.

Zároveň byl v posledních letech v primárních ciliích prokázán fibrocystin (spojen s ARPKD) (95) a inversin (spojen s nephronophthisis typu 2) (96). OFD1 (asociovaný s oro-facial digital syndromem typu I) je lokalizovaný do oblasti centrosomu na bazi primárních cilií (97). Tyto nálezy svědčí pro význam abnormální funkce ciliárních struktur v patogenezi polycystických onemocnění ledvin obecně.



Obr. č. 5: Elektronmikroskopický obraz primárních cilií na apikálním povrchu renálních tubulárních buněk a schematické znázornění mechanismu zvýšení intracelulární koncentrace kalcia zprostředkovaného pohybem cilií (převzato z [www.nature.com](http://www.nature.com))

### 3.2 Abnormální interakce buňka-matrix a buňka-buňka

Druhým aspektem cystogeneze jsou abnormální interakce typu buňka-matrix a buňka-buňka.

#### 3.2.1 Interakce buňka-buňka

Polycystin 1 je za normálních okolností lokalizován v mezibuněčných spojích, je součástí desmosomů (viz výše). U buněk s ADPKD je však tento protein spolu s desmosomálními proteiny prokazován i intracytoplazmaticky. Zároveň je na buněčném povrchu E cadherin (down-regulace) nahrazen N cadherinem. Mutovaný polycystin 1 tedy inhibuje normální tvorbu desmosomů (98). Výsledkem těchto abnormálních mezibuněčných interakcí je pro patogenezi onemocnění velmi důležitá fáze - ztráta polaritě epiteliálních buněk. To vede k abnormálnímu rozložení a lokalizaci transmembránových proteinů – iontových kanálů, transportérů, receptorů (včetně receptorů pro růstové faktory) a adhezních molekul (84). Tím je podmíněna ztráta původně resorpční funkce epitelu, buňky ztrácejí kartáčový lem, zesiluje se jejich bazální membrána. Všechny tyto pochody se ve svém důsledku podílejí na finálním uvolnění buňky od okolních buněk a extracelulární matrix a umožnění tvorby cyst.

#### 3.2.2 Interakce buňka-matrix

U pacientů s ADPKD dochází v ledvinách kromě vlastní tvorby cyst také k výrazným intersticiálním změnám. Byly zjištěny ultrastrukturální a biochemické abnormality bazálních membrán ledvinných tubulů i abnormality ve složení extracelulární matrix. Je popisováno ztlustění bazální membrány cyst se zvýšeným obsahem abnormálně posttranslačně upravených proteoglykanů. In vitro byla u epitelů pocházejících od pacientů s ADPKD ve srovnání se zdravými epiteliálními buňkami pozorována zvýšená produkce extracelulární matrix (ECM) (99).

Za normálních okolností se interakce mezi buňkami a ECM podílejí na regulaci řady důležitých procesů – buněčného růstu, expresi povrchových proteinů, diferenciaci buněk, genové

expresi. Zdá se, že abnormální složení ECM může vést prostřednictvím odlišností v těchto interakcích k dysregulaci uvedených procesů a přispívat tak k buněčné hyperplazii a sekreci tekutiny do lumina cyst.

Některé experimentální práce naznačují, že do procesu cystogeneze zasahují také metaloproteinázy (MMP) a tkáňové inhibitory metaloproteináz (100-102). U pacientů s ADPKD byly skutečně nalezeny jejich zvýšené sérové hladiny (MMP-1, MMP-9, tkáňový inhibitor metaloproteinázy 1) (103). To může vést ke zvýšené degradaci intersticiálních proteinů. Diskutovanou otázkou zůstává, zda se jedná o primární či sekundární změny. Poslední experimenty na zvířecích modelech ARPKD i ADPKD však ukazují, že inhibice metaloproteináz může mít pozitivní efekt na tíži a průběh onemocnění (104).

U polycystických onemocnění ledvin byla také prokázána zvýšená exprese řady dalších komponent bazální membrány, ECM a molekul, které jsou součástí mezibuněčných spojení. Zvýšeně exprimovány jsou laminin, kolagen typu IV a tenascin (glykoprotein ECM) (105, 106). Byla také popsána zvýšená afinita epitelálních buněk s ADPKD ke kolagenu I a IV (84). Nepravidelná exprese byla pozorována také u alfa-podjednotek integrinu (107).

Abnormální procesy v intersticiu vedou ve svém důsledku k intersticiálním zánětlivým a fibrotickým změnám v ledvinách, které dále urychlují progresi všech cystických ledvinných onemocnění. Jako příklad lze uvést monocyte chemoattractant protein-1, který je jedním z mediátorů intersticiálního zánětu a jeho hladina je ve zvířecím modelu ADPKD zvýšena (108). Zároveň bylo na zvířecích modelech ARPKD i ADPKD dokumentováno zvýšení oxidačního stresu a snížený protektivní vliv antioxidantů (109). Zvažují se i odchylky ve steroidním a lipidovém metabolismu prokázané na zvířecím modelu ARPKD, jejich význam je však dosud nejasný (110-112).

Nově zvažovaným faktorem majícím vliv na cystogenezu ve fázi progresu velikosti cyst je cévní zásobení. Při zvětšování cysty dochází k překročení nutričních možností stávajícího cévního zásobení – analogicky jako v případě nádorového růstu. Studie z poslední doby demonstrují zvýšenou vaskularitu a angiogenezi v bezprostředním okolí cyst (113). Význam angiogeneze pro progresi cystického postižení ledvin však teprve musí být objasněn.

Epitelie cyst také produkují řadu cytokinů, renin, endotelin a lysozomální enzymy – které rovněž vedou k intersticiální fibróze, vaskulární skleróze, tubulární atrofii. Všechny tyto procesy jsou však uniformní pro pokročilé cystické postižení ledvin z různých příčin a nejsou typické jen pro ADPKD. Cytokiny (zejména prostaglandin E1 a E2) navíc zvyšují intracelulární koncentraci cAMP, což vede k další stimulaci proliferace buněk renálních cyst.

U většiny popsaných intersticiálních změn se však pravděpodobně jedná spíše o následek a nedílnou součást komplexních změn doprovázejících tvorbu renálních cyst než o jejich příčinu.

### 3.3 Exkrece tekutiny

Poslední nezbytnou podmínku pro expanzi cyst po ztrátě kontinuity s mateřským nefronem představuje exkrece tekutiny do lumina cysty. Předpokládá se, že hlavním mechanismem je aktivní

exkrece chloridových aniontů přes apikální membránu buněk cyst, dominantní roli v tomto procesu hraje zřejmě cAMP zprostředkovaný transport prostřednictvím CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductor regulator) (114, 115). Ve shodě je vysoká nalézaná koncentrace chloridových iontů v tekutině cyst. Průnik sodíkových iontů a vody do lumina cyst je v tomto případě pasivní (v případě sodíkových kationtů je průnik navíc usnadněn jejich kladným nábojem – v luminu jsou elektronegativní chloridové ionty). Faktorem stimulujícím aktivní transport Cl<sup>-</sup> přes CFTR je zvýšený obsah cAMP v epiteliálních buňkách tvořících výstelku cyst (viz výše). Klinickým korelátem této teorie by mohl být některými autory popisovaný mírnější průběh ADPKD a pomalejší tvorba renálních cyst u pacientů majících zároveň cystickou fibrózu (horší transport Cl<sup>-</sup> přes CFTR) (116). Protože další podobně zaměřené studie tento efekt nepotvrdily (117), byl navržen a proveden pokus na zvířecím modelu ARPKD. Tyto tzv. bpk myši byly zkříženy s myším modelem cystické fibrózy (linie myši s knock-outovaným CFTR v obou alelách). Ve výsledku nebyl pozorován mírnější průběh polycystické choroby ledvin – proto lze odvozovat, že CFTR při vzniku cyst zřejmě nehraje rozhodující roli a jeho význam je spíše přeceňován.

Spoluúčast na sekreci tekutiny do cyst je připisována i kvantitativním a kvalitativním změnám v expresi Na-K-ATPázy. U části cyst je exprese Na-K-ATPázy prokazatelná i na apikálním povrchu buněk, zatímco u normálních renálních epitelií bývá exprimována pouze na bazolaterálních površích (118, 119). Toto pozorování je ve shodě s teorií o ztrátě polarity a nižším stupni diferenciaci epiteliálních buněk tvořících výstelku cyst. V proximálních tubulech zvýšená Na-K-ATPázová aktivita ovlivňuje tubulární sekreci a tvorbu cyst prostřednictvím aktivace sekundárních aktivních transportních procesů (jako je například tubulární sekrece organických aniontů), čímž vede ke zvýšení osmolality tekutiny cyst a následné pasivní akumulaci tekutiny v cystách. Ve sběrných kanálcích může apikálně lokalizovaná Na-K-ATPáza zprostředkovat přímo transport sodíkových iontů do lumina cyst a tím opět akumulaci tekutiny v luminu cyst.

V současnosti se diskutuje úloha a význam dalších kanálů pro progresi cyst u ADPKD - např. vliv dalších chloridových kanálů, abnormalit amilorid-senzitivního sodíkového transportu, úloha aquaporinů pro vstup vody do lumina cyst.

Při sekreci tekutiny do lumina cyst dochází k nárůstu mechanického napětí stěny cysty, což je samo o sobě stimulem proliferace epiteliálních buněk tvořících jejich výstelku a vedoucím k buněčné hyperplázii (viz výše).



## 4 KLINICKÁ MANIFESTACE

Jak bylo uvedeno, ADPKD je multisystémovým onemocněním. Dominující symptomatologie je dána postižením ledvin – cysty ledvin a z toho vyplývající zvětšení ledvin, porucha funkce ledvin, proteinurie, hematurie, infekce močových cest, urolitiáza, hypertenze. K extrarenálním symptomům patří dle orgánových systémů: kardiovaskulární – poruchy (především prolaps) srdečních chlopní, cerebrální aneuryzmata, gastrointestinální – cysty jater, sleziny, pankreatu, poruchy pojivové tkáně – častější výskyt hernií břišní stěny, střevních divertikulů. Nejčastějšími subjektivními symptomy spojovanými s ADPKD jsou jednak příznaky vyvolané cystickým postižením ledvin – bolesti břicha, bolesti v bedrech, jednak příznaky vyvolané hypertenzí – například bolesti hlavy, krvácení z nosu, a další. Epididymální cysty mohou být příčinou infertility u mužů. Frekvenci symptomů u dětí a dospělých shrnuje tabulka 1.

SYMPTOMY ADPKD		
Symptom	Děti	Dospělí
hematurie (mikro- i makrohematurie)	10%	35-50%
porucha koncentrační schopnosti ledvin	60%	100%
proteinurie	14%	18%
mikroalbuminurie	30%	25%
nefrolitiáza	-	20%
bolesti břicha	10%	60%
hepatální cysty prokázané MRI	55% ve věku 25 let	83%
divertikulitida kolon	-	82%
aneuryzmata CNS	vzácná	5-7%
prolaps mitrální chlopně	12%	26%
hypertenze předcházející ztrátě renálních funkcí	22%	60%
hyperlipidémie	54%	-
hernie	10%	-
jaterní cysty	vzácné	70%
pankreatické cysty	vzácné	16%
slezinné cysty	vzácné	7%
epididymální cysty	vzácné	18%

Tabulka 1 – frekvence symptomů ADPKD u dětí a dospělých (120)

### 4.1 Věková distribuce symptomů

V nejnižších věkových skupinách se v drtivé většině případů jedná o klinicky němé onemocnění, event. jen s možností UZ průkazu renálních cyst. Výjimkou je tzv. velmi časný nástup ADPKD – s prenatálním cystickým postižením ledvin klinicky obtížně odlišitelným od autozomálně recesivního polycystického onemocnění ledvin (ARPKD). Těmto formám dominuje především renální symptomatologie – hyperechogenní, zvětšené ledviny, s/ bez makrocystické složky, s různým stupněm renální insuficience, Potterovým syndromem a možným úmrtím na podkladě hypoplázie plic. Stejně

jako u ARPKD může být již v novorozeneckém věku přítomna hypertenze (i při normálních renálních funkcích).

U starších dětí jsou nejčastějšími symptomy abdominální bolesti, mikro-/ makrohématurie (často i po zdánlivě malém traumatu), infekce močových cyst, hernie, symptomy vyplývající z hypertenze – nejčastěji bolesti hlavy a krvácení z nosu (121). Rozvoj cystického postižení ledvin je patrný u významné části pacientů, zvětšení ledvin je často asymetrické, jen vzácně je postižení jednostranné (122). Zvětšené ledviny mohou již v tomto věku představovat hmatnou rezistenci. Laboratorně již může být přítomna porucha koncentrační schopnosti – klinickým korelátem jsou polyurie, polydipsie, enuréza. Porucha glomerulární filtrace a chronická renální insuficience jsou v tomto věku vzácné. Ostatní extrarenální symptomy obvyklé u dospělých (jako hepatální, pankreatické, ovariální cysty) jsou u dětí vzácné, pokud se však objeví, mohou být diferenciativně diagnosticky užitečné k odlišení od ARPKD. Ačkoli jsou extrarenální cysty u dětí s ADPKD vzácné, byly popsány již v prvním roce života. Poruchy srdečních chlopní (zejména mitrální prolaps) se vyskytují ve srovnání se zdravou populací ve zvýšené míře u dětí i u dospělých. Aneurysmata v CNS mohou být přítomna již v dětství, klinického významu však obvykle nabývají až v dospělosti.

Teprve u dospělých obvykle dochází k plnému rozvoji obrazu onemocnění s možností manifestace všech potenciálních orgánových symptomů. I v této věkové skupině však klinické spektrum závažnosti postižení kolísá od zcela asymptomatických jedinců, přes pacienty se sonograficky prokázanými cystami a různým stupněm postižení ledvinných funkcí, až po nejtěžší formy s rozvojem chronického renálního selhání.

## **4.2 Symptomatologie ADPKD dle orgánových systémů**

### **4.2.1 Ledviny a močové cesty**

Problematika cystického postižení ledvin, zvětšení ledvin a ztrát renálních funkcí je probrána samostatně v kapitolách zabývajících se cystogenezí a korelací genotypu a fenotypu ADPKD. Zatímco tvorba a expanze cyst je progresivním procesem začínajícím již v dětství, pro renální funkce platí mnohými studii potvrzené pravidlo vysoké konzervovanosti glomerulární filtrace u dětí a renální funkce zůstávají normální dlouho do dospělosti (11, 121). Jedinou výjimku představuje skupina dětí s velmi časným nástupem nemoci – u dětí s prenatálním event. v prvním roce života prokázanými cystami může dojít k chronickému renálnímu selhání již v dětství (viz kapitola zabývající se časným nástupem ADPKD).

Velmi častá je porucha koncentrační schopnosti. Její prevalence stoupá s věkem – u dětí je popisována až v 60%, u dospělých postupně až ve 100% (123).

Ve skupině 18 dětí s ADPKD a kontrolní skupině 41 pacientů byly stanovovány GFR (za použití  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA (diethylentriamin pentaacetát)) a sérový cystatin C (124). Obě skupiny se významně nelišily v základních demografických charakteristikách (u dětí s ADPKD byl průměrný věk  $9,8 \pm 5,9$  roku, v kontrolní skupině  $10,4 \pm 4,9$  roku). Hladiny sérového kreatininu se v obou skupinách statisticky významně nelišily. Průměrná hodnota GFR ve skupině ADPKD však byla významně vyšší

než u kontrol ( $142 \pm 33,2$  ml/min/ $1,73$  m<sup>2</sup> oproti  $110 \pm 12$  ml/min/ $1,73$  m<sup>2</sup>). Průměrná hodnota cystatinu C byla u ADPKD signifikantně nižší než u kontrol  $0,71 \pm 0,11$  mg/l oproti  $0,81 \pm 0,12$  mg/l). Lze tedy konstatovat, že ve skupině dětí s ADPKD byla zjištěna hyperfiltrace – a to v časně presymptomatické fázi onemocnění. Toto zjištění naznačuje racionalitu terapie ACE inhibitory, které by mohly snížit hyperfiltraci, neboť glomerulární hyperfiltrace může způsobovat progresivní poškození glomerulů.

Proteinurie je méně častým symptomem, u ADPKD bývá převážně jen mírného stupně (125, 126). Častěji bývá popisována u dětí, prevalence u dospělých s ADPKD klesá – mikroalbuminurii má zhruba 30% dětí a 25% dospělých, proteinurii má 23% dětí a 17% dospělých. Sama o sobě vede proteinurie ke zvýšené sekreci a uvolňování vazoaktivních látek vedoucích k tubulointersticiálnímu zánětu a k progresi renální insuficience. Bylo prokázáno, že proteinurie je samostatným rizikovým faktorem zhoršujícím prognózu renálních funkcí. U dětí i u dospělých proteinurie pozitivně koreluje s tíží hypertenze a s tíží cystického postižení ledvin.

Makrohématurie je udávána alespoň v 1 epizodě během života až u 50% pacientů s ADPKD. Ani mikrohematurie není zcela běžným nálezem u ADPKD, vyšší výskyt (až 65%) bývá popisován u pacientů s předcházející epizodou makrohématurie v anamnéze (127).

Častou komplikací ADPKD představují u dospělých i dětských pacientů infekce močových cest (IMC) – v průběhu života postihují až polovinu pacientů s ADPKD, častější jsou u žen. Diagnostika je u ADPKD komplikována běžným výskytem sterilní pyurie a mikrohematurie. Pro stanovení diagnózy IMC je tedy nezbytné adekvátní mikrobiologické vyšetření moči - pozitivní kvantitativní bakteriurie (KBU). Dalším příznakem použitelným k odlišení od krvácení do cysty (které může mít podobné symptomy jako IMC – bolesti v bedrech, febrilie, leukocytóza) je přítomnost dysurie a polakisurie. Většina infekcí je způsobena gram-negativními bakteriemi (zejména enterobakterie). Komplikací IMC je infekce renálních cyst. Zde je nutno upozornit na možnost negativní KBU – cysty většinou nemají spojení s vývodným močovým systémem. Eradikace infekce renální cysty je často ztěžována špatným průnikem většiny antibiotik stěnou cyst.

Na patogenezi urolitiázy (až 20% pacientů s ADPKD – tedy 10x více než v běžné populaci) se podílí stagnace moči v cystách i metabolické poruchy (snížená koncentrace citrátů v moči, hyperurikosurie, hyperkalcurie) (128). Nejčastěji jsou konkrementy (nad 50%) tvořeny uráty (u pacientů s litiázou idiopatického původu převažují kalciumoxalátové kameny). Průkaz litiázy se neliší od diagnostiky v obecné populaci – nativní snímek, CT, vylučovací urografie. Litiáza je také prokazatelně faktorem zhoršujícím prognózu ADPKD.

#### 4.2.2 Hypertenze

Časným a velmi frekventním symptomem ADPKD je hypertenze – vyskytuje se již v dětství, s výrazným nárůstem v adolescenci (129-131). Je tedy nejčasnějším a nejčastějším systémovým příznakem ADPKD. Obvykle hypertenze dlouho předchází poklesu glomerulární filtrace. Prevalence hypertenze zároveň stoupá s progresí onemocnění (zvětšování ledvin v důsledku cystického postižení, zhoršování renálních funkcí). Její výskyt je udáván u cca 20-30% (některé studie udávají rozptyl až 5-

44%) dětí a 50-70% dospělých s ADPKD. Patogeneze hypertenze je komplexní. Uvádí se vlivy sníženého renálního průtoku, renin-angiotenzin-aldosteronového systému (132), endotelinového systému (vliv NO), sympatického nervového systému, zvýšení plazmatického volumu, retence natria, zvýšené hladiny atriálního natriuretického faktoru a zvýšená syntéza reninu juxtaglomerulárním aparátem při útlaku a ischemizaci některých oblastí ledvin narůstajícími cystami (133). U ADPKD navíc dochází v cysticky postižené ledvině ke změně senzitivity tubulárních buněk vůči angiotenzinu II, k abnormální distribuci buněk obsahujících renin (což může ovlivnit vstup reninu do cirkulace) a i tubulocystický epitel má schopnost syntetizovat renin. Hypertenze je prokázaným samostatným rizikovým faktorem zhoršujícím renální prognózu a vedoucím k rychlejší progresi renální insuficience u všech nefropatií – tedy i u ADPKD (130, 134-137). Při echokardiografickém vyšetřování byl zjištěn zvýšený index hmoty levé komory dokonce i u pacientů s ještě normálním krevním tlakem. Tato fakta vedla v poslední době v USA k zavedení pojmu prehypertenze - definována u dospělých jako systolický TK 120-139 mmHg a diastolický TK mezi 80-89 mmHg (dříve TK v této kategorii označován jako vysoký normální TK) a k úvahám o zahájení antihypertenzní terapie již v tomto stádiu. Byla rovněž prokázána pozitivní korelace mezi krevním tlakem a závažností cystického postižení ledvin – tedy počtem cyst i velikostí ledvin. Navíc byl u dětí s ADPKD pomocí ABPM (ambulatory blood pressure monitoring = 24 hodinové ambulantní monitorování krevního tlaku) prokázán abnormální cirkadiánní profil krevního tlaku – zejména noční hypertenze, nedostatečný noční pokles TK (131). Toto zjištění má prognostický význam, neboť noční hypertenze a redukovaný noční pokles TK jsou z hlediska kardiovaskulárního rizikovější než denní hypertenze.

#### 4.2.3 Kardiovaskulární symptomy kromě hypertenze

Ke kardiovaskulárním příznakům ADPKD se kromě hypertenze řadí zejména poruchy srdečních chlopní (138-140). Při cíleném echokardiografickém vyšetřování ADPKD pacientů byla v mnoha studiích prokázána relativně vysoká incidence postižení srdečních chlopní – abnormality lze prokázat až u 25-30% pacientů. Jedná se nejčastěji o prolaps mitrální chlopně a aortální regurgitaci (dána dilataci kořene aorty a anulu), méně časté jsou mitrální a trikuspidální regurgitace. Poprvé byly popsány u dospělých pacientů v roce 1984, při cíleném vyšetřování jsou však změny zjišťovány již u dětských pacientů (například prolaps mitrální chlopně u 12% dětí s ADPKD oproti 3% v běžné populaci). U některých pacientů může progresi postižení vyústit v potřebu náhrady chlopně. Jako kazuistiky byly popsány vzácné případy disekce aorty u ADPKD.

U dětí s ADPKD bylo také popsáno několik případů fibroelastózy endokardu (141). Při echokardiografickém vyšetřování byl u některých dětí a dospělých ještě ve fázi normotenze prokázán zvýšený index levé komory a časná diastolická dysfunkce (142). U dospělých pacientů je diskutováno zvýšené riziko výskytu aneurysmat koronárních arterií (u dětí nebyly popsány).

K potenciálně nejzávažnějším komplikacím ADPKD patří aneurysmata mozkových tepen (143). Jejich výskyt stoupá s věkem – u mladých dospělých se uvádí výskyt kolem 4%, ve vyšším věku až 10% pacientů s mutací PKD1. Pro srovnání – v normální populaci je udáván výskyt

mozkových aneuryzmat kolem 1,2%. Incidence ruptur mozkových aneuryzmat je u ADPKD 1:2000 pacientů ročně, což je 5x vyšší incidence než v běžné populaci. U pacientů s mutací PKD2 je výskyt aneuryzmat zcela raritní – byly popsány kazuistiky u 2 rodin s mutací PKD2 a výskytem mozkových aneuryzmat. Nejčastěji bývá postižena a. cerebri media, u 30% pacientů je výskyt aneuryzmat mnohočetný. Ačkoliv se aneuryzma může samozřejmě objevit i u pacientů s negativní rodinnou anamnézou, v literatuře bývá typicky popisována tendence k familiárnímu výskytu. Pro průkaz aneuryzmat je v současnosti zlatým standardem a metodou volby vyšetření pomocí angiografie magnetickou rezonancí (MR angiografie). Na věk prvního screeningového vyšetření neplatí obecný konsenzus, obvykle se však screeningové vyšetření pomocí MR angiografie provádí u pacientů v rizikových rodinách od 20 let věku (při symptomech jako bolesti jsou hlavy i dříve), dále v intervalu po 10 letech, event. častěji dle aktuálního nálezu (144). Pro riziko ruptury a subarachnoidálního krvácení je významná rodinná anamnéza, věk nad 40 let, průměr aneuryzmatu nad 10 mm, špatně kontrolovaná hypertenze. Riziko krvácení u osob s pozitivní anamnézou výskytu aneuryzmat/subarachnoidálního krvácení dosahuje až 20%.

#### 4.2.4 Extrarenální cystické postižení

Cysty jater, sleziny a pankreatu jsou v naprosté většině případů asymptomatické (145). Jaterní cysty jsou u ADPKD nejčastějším extrarenálním postižením – prevalence udávaná při vyšetřování magnetickou rezonancí je až 55% ve věku 25 let, v průběhu života stoupá na 83% (146). Vznikají proliferací a sekrecí epitelii žlučových cest event. z biliárních mikrohamartomů, ve finální fázi však nejsou v kontaktu se žlučovými cestami. Jejich klinickou konsekvencí jsou především potenciální komplikace – infekce, ruptura, krvácení, portální hypertenze, vzácné jsou venózní nebo biliární obstrukce, cholangiokarcinom. Přispívají také diferenciální diagnostice základního onemocnění. Nebyla nalezena diference ve výskytu těchto cyst u ADPKD podmíněného mutací v PKD1 a PKD2. Spekuluje se o vlivu estrogenů na vznik hepatálních cyst, některé studie uvádí rozsáhlejší hepatální cysty u žen po opakovaných těhotenstvích a při užívání hormonální antikoncepce – jiné studie jsou však s tímto pozorováním v rozporu (147). Před 16. rokem věku jsou hepatální cysty velmi vzácné.

V ojedinělých případech byly popsány případy kongenitální jaterní fibrózy (148). U těchto pacientů klinickému průběhu naopak dominuje postižení jater s portální hypertenzí a hypersplenismem, které předchází renální manifestaci. Morfologicky se prokazuje nepravidelná periportální fibróza se širokými svazky kolagenních vláken a s proliferací epitelii žlučových kanálek. Původně byla jaterní fibróza považována za vylučující faktor pro diagnózu ADPKD (bývá naopak typická pro ARPKD). Později však byla u těchto pacientů prokázána vazba na 16. chromozom a tím potvrzena diagnóza ADPKD.

Vzácnější jsou cysty pankreatu a sleziny – u cyst pankreatu je udávána prevalence kolem 5-16%. Pankreatické cysty bývají přítomny výhradně u PKD1 pacientů a dle publikovaných údajů nebyl prokázán jejich vliv na morbiditu a mortalitu těchto pacientů. Jako vzácná komplikace cystického

postižení pankreatu byla popsána chronická obstruktivní pankreatitida s nutností resekce distální části pankreatu.

U mužů s ADPKD se vyskytují ve zvýšené míře seminální a epididymální cysty (149). Prevalence epididymálních cyst je udávána kolem 18%, u seminálních cyst byla prevalence ve dvou studiích 39% a 60%. Jejich relativně vzácnou komplikací je obstruktivní azoospermie. U pacientů s těmito cystami je doporučováno provedení UZ ledvin k vyloučení ADPKD. V Japonsku bylo vyšetřeno 1956 infertilních mužů – u 16 byla diagnostikována imobilní spermatozoa a u 4 byl zjištěn defekt 9+0 v centrálních mikrotubulech bičíku. U těchto 4 pacientů byla potvrzena ADPKD. Po provedené ICSI (intracytoplasmatic sperm injection) ani v jednom případě nedošlo k vývoji embrya, což ukazuje na důležitou roli centrálních mikrotubulů ve fetálním vývoji. Souvislost 9+0 defektu v bičíku u ADPKD pacientů bude dále zkoumána (22). U žen nebyla potvrzena vyšší prevalence ovariálních cyst u ADPKD ve srovnání s normální populací (22).

Vzácně byly popsány cysty štítné žlázy.

#### **4.2.5 Postižení pojiva**

U ADPKD se vyskytují také komplikace vyplývající z postižení pojivové tkáně. Bývá popisován vyšší výskyt střevních divertikulů, inguinálních a pupečních hernií ve srovnání s běžnou populací. Inguinální hernie se vyskytují až u 10% dětí s ADPKD a výskyt inguinální hernie u dítěte se známým rizikem ADPKD může být podle některých autorů dokonce považován za významný marker nemoci (150). Klinickým korelátem střevních divertikulů jsou především bolesti břicha, komplikace zahrnují divertikulitidu a možnost perforace tlustého střeva (151, 152).

#### **4.2.6 Metabolické symptomy**

Mezi metabolické symptomy ADPKD se řadí hyperlipidémie (hypertriglyceridémie nebo hypercholesterolémie). Je relativně časným symptomem a je přítomna až u 54% dětí s ADPKD.

#### **4.2.7 Další symptomy**

Velmi časté jsou u ADPKD subjektivní obtíže. Bolesti břicha, event. v bederní krajině mají svůj původ nejčastěji v expanzi cyst (obvykle renálních cyst, ale i cyst v jiné lokalizaci), event. v infekci cyst. U 5-7% pacientů se v průběhu života objevují koliky – jejich vyvolavatelem je nejčastěji litiázou, blokádou močových cest koagulem při makroskopické hematurii, krvácením do cysty nebo rupturou cysty. Další časté subjektivní symptomy bývají podmíněny hypertenzí – bolesti hlavy, krvácení z nosu, a další.

V souvislosti s ADPKD byl popsán i zvýšený výskyt některých vrozených vývojových vad – zejména srdeční vady, anomálie GIT a ledvin (nejčastěji perzistující foramen ovale, podkovovitá ledvina) (153, 154).

Anémie bývá ve srovnání s dalšími onemocněními ledvin méně vyjádřena – buňky přiléhající k výstelce cyst mohou vytvářet erythropoetin. Rovněž velmi vzácnou komplikací je vznik karcinomu ledviny.

#### 4.2 Zahraníční studie zaměřené na prevalenci symptomů

Tee et al. publikovali studii, ve které bylo sledováno 55 dětí ze 44 rodin v rozmezí let 1983-2003 (139). Diagnóza byla založena pozitivní rodinné anamnéze a UZ průkazu renálních cyst. Většina pacientů byla vyšetřována screeningově právě pro pozitivní rodinnou anamnézu. Průměrný věk při průkazu onemocnění 8,7 roku, 27% pacientů pod 1 rok věku. Průměrná doba sledování 4,9 roku. Maternální dědičnost byla u 51% dětí. Bilaterální renální cysty byly zjištěny u 78% dětí, nikdo neměl jaterní, slezinné a pankreatické cysty. Hypertenzi mělo 22%, hyperlipidémii 54% dětí. Normální renální funkce byly zjištěny u 98% pacientů, 7% pacientů mělo proteinurii (zde definována jako >150 mg/l). 10 pacientů mělo pozitivní prenatální UZ nález. Všichni z této skupiny měli oboustranné postižení ledvin, 89% z nich zdědilo mutaci maternálně.

Významná část pacientů s ADPKD v dětském věku má tedy přítomny další rizikové faktory – hypertenzi, proteinurii, hyperlipidémii. Naopak renální funkce jsou dětí dobře zachovány.

#### 4.3 Dosud publikovaná data z českého registru dětí s ADPKD

V roce 1992 byl založen registr dětských pacientů s ADPKD shromažďující pacienty z celé České republiky. V současnosti se jedná o jeden z největších světových registrů dětí s ADPKD – v 5/08 obsahoval data cca 260 dětí.

V dřívějších studiích provedených na dětských pacientech z našeho registru (v té době 170 dětí s ADPKD bez ohledu na typ vyvolávající mutace) byla publikována řada dat svědčících pro významný výskyt příznaků ADPKD již v dětském věku. V souboru 71 pacientů bylo UZ vyšetřením prokázáno zvětšení ledvin vpravo ve 38%, vlevo ve 44%, cystické postižení ledvin bylo u 95,8% dětí, u 66% bylo zjištěno již více než 10 cyst (součet v obou ledvinách). Počet cyst pozitivně koreloval s hodnotou krevního tlaku (hodnocena dle ABPM).

Úkolem další studie provedené na dětech z českého registru bylo zjistit prevalenci hypertenze v časných fázích rozvoje ADPKD pomocí ABPM (130). Bylo vyšetřeno 32 dětí (střední věk  $12,3 \pm 4,7$  roku), diagnóza byla založena na pozitivní rodinné anamnéze a UZ vyšetření, 21 pacientů mělo diagnózu verifikovanou pomocí molekulárně genetického vyšetření. 44% pacientů bylo asymptomatických, dle UZ bylo 39% ledvin zvětšených, mikrohematurie byla zachycena u 19%, proteinurie u 29% a mikroalbuminurie u 64% pacientů, všichni měli normální glomerulární filtraci. 51% pacientů mělo poruchu koncentrační schopnosti ledvin a 33% zvýšenou koncentraci plazmatického reninu. Na základě ABPM mělo 11 pacientů hypertenzi (34%), u 4 z nich byla zjištěna izolovaná noční hypertenze. Redukovaný noční pokles TK byl zaznamenán u 2 pacientů. 82% pacientů mělo průměrné hodnoty TK nad 50. percentilem. Hodnota krevního tlaku korelovala s velikostí ledvin, nekorelovala s GFR, proteinurií, plazmatickou reninovou kapacitou.

U dospělých s ADPKD byla prokázána pozitivní korelace mezi zvětšením ledvin a hypertenzí. K ověření tohoto vztahu u dětí byla provedena studie na 62 dětských pacientech (střední věk  $12,3 \pm 4,3$  roku) (129). Všichni měli normální renální funkce, vyšetřování byli pomocí ABPM. Hypertenze byla

zjištěna u 22 dětí, 40 dětí bylo normotenzních. U hypertenzních byl přes srovnatelná antropometrická data signifikantně větší střední objem ledvin než u normotenzních –  $2,7 \pm 2,3$  SDS oproti  $1,2 \pm 2,5$  SDS. Stejně tak počet cyst byl u hypertoniků signifikantně vyšší  $35 \pm 15$  cyst oproti  $23 \pm 14$  cyst. Objem ledvin, délka ledvin a počet renálních cyst korelovaly s krevním tlakem.

Na skupině 53 dětí (střední věk  $11,8 \pm 4,4$  roku) byl studován vztah mezi koncentrační schopností ledvin a krevním tlakem (155). Koncentrační schopnost byla snížena u 58% dětí (což je ve shodě s literárními údaji – prevalence poruchy koncentrační schopnosti ledvin u dětí je udávána zhruba 50% (156)). Byla nalezena negativní korelace mezi koncentrační schopností ledvin a krevním tlakem a mezi koncentrační schopností ledvin a počtem renálních cyst. Prevalence hypertenze byla signifikantně vyšší u dětí se sníženou koncentrační schopností ledvin – vyskytovala se u 35% těchto dětí, zatímco u pacientů se zachovanou koncentrační schopností byla hypertenze prokázána jen v 5%. Snížená koncentrační schopnost ledvin tedy může být považována za časný marker postižení funkce ledvin a za rizikový faktor pro rozvoj hypertenze.



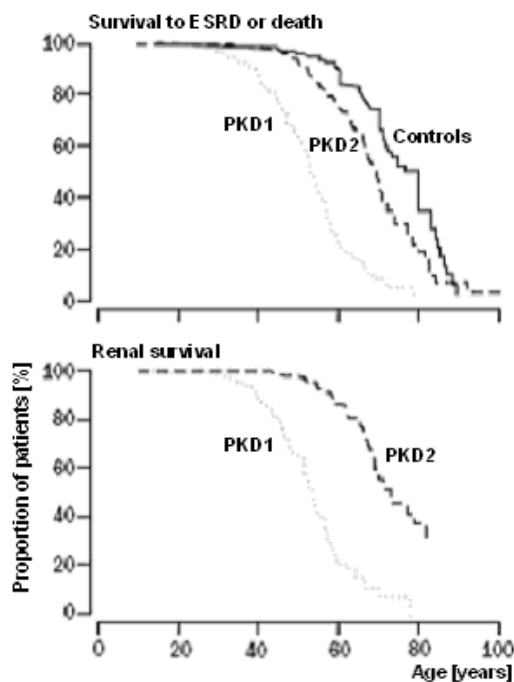
## 5 KORELACE GENOTYP-FENOTYP U DOSPĚLÝCH S ADPKD

Existuje řada studií prokazujících lepší prognózu pacientů s mutovaným genem PKD2 oproti mutaci v PKD1 genu (3, 10, 18, 157, 158).

Limitem většiny prací zůstává většinou menší skupina PKD2 pacientů (tvoří jen 15% všech ADPKD v populaci). Navíc žádné z obou onemocnění nebylo srovnáno s nepostiženou kontrolní populací v době přežití. K překonání těchto nedostatků byla vytvořena pracovní skupina zaměřená na ADPKD a v roce 1998 byla v Cardiffu realizována celoevropská studie. Úkolem této skupiny bylo sbírat standardizovaná data z rozsáhlých rodin s oběma typy ADPKD a srovnání těchto dat s nepostiženými kontrolami k definování celkového klinického dopadu dvou hlavních genotypů ADPKD. Výsledkem je jedna z nejrozsáhlejších a nejvíce citovaných studií zabývajících se přežíváním a srovnáním fenotypů PKD1 a PKD2 podmíněných onemocnění (11).

Byla porovnávána data 333 pacientů s PKD1 (31 rodin) s daty 291 pacientů s PKD2 (31 rodin) a 398 geograficky srovnatelných kontrol. Medián věku při úmrtí nebo end-stage renal disease byl 53,0 roku (95%, CI 51,2-54,8) u pacientů s PKD1, 69,1 roku (66,9-71,3) u PKD2 a 78,0 roku (73,8-82,2) u kontrol (obr. č. 6). Ženy s PKD2 měly významně delší medián přežití než muži (71,0 (67,4-74,8) oproti 67,3 (64,9-69,7) roku), ale vliv pohlaví nebyl zřejmý u PKD1. Pro kontrolní populaci byl průměrný věk smrti podobný očekávané době života platného pro Evropskou unii (73,3 vs 74,0 roků pro muže, 76,5 vs 80,5 roků pro ženy; Eurostat, the Statistical office of the European Communities, <http://www.europa.eu.int/en/comm/eurostat/serven/home.htm>). Věk nástupu end-stage renal disease byl vyšší u PKD2 než u PKD1 (medián věku 74,0 (67,2-80,8) oproti 54,3 (52,7-55,9) roku) (obr. č. 6). Ve skupině PKD1 byl medián věku při diagnóze zjištěné na podkladě symptomů ADPKD 42,0 roku (38,6-45,4) ve srovnání s 56,0 roku (52,1-59,9) ve skupině PKD2.

Nejvýznamnější rozdíl byl pozorován u hypertenze, pro kterou byla prevalence ve skupině PKD2 po korekci dle věku a pohlaví 4x nižší než ve skupině PKD1 (odds ratio 0,25 (95%, CI 0,15-0,42)), navíc byl ve skupině PKD1 vyšší vzestup v prevalenci hypertenze se stoupajícím věkem než ve skupině PKD2. Pohlaví nemělo vliv na výskyt hypertenze v žádné skupině. Frekvence infekcí močových cest stoupala s věkem, zejména mezi ženami. Po korekci pro pohlaví a věk byla infekce ledvinných infekcí mezi PKD2 poloviční ve srovnání s PKD1 (OR 0,50 (0,31-0,83)). Podobně výskyt makrohémie byl signifikantně nižší u PKD2 než u PKD1 (OR 0,59 (0,35-0,98)). Ačkoli frekvence výskytu urolitiázy stoupala s věkem, nebyl signifikantní rozdíl mezi muži a ženami a mezi jedinci s PKD1 a PKD2. Ve výskytu hernií nebyl signifikantní rozdíl mezi skupinami PKD1 a PKD2. 10% pacientů s PKD1 a 8% s PKD2 zemřelo na cévní mozkovou příhodu. Celkový počet prokázaných subarachnoidálních krvácení (osm u PKD1, tři u PKD2) byl nedostatečný pro statistickou analýzu. Byl zkoumán vliv maternálního/paternálního původu mutace na tíži onemocnění – nebyly zjištěny signifikantní rozdíly ani u PKD1 a ani u PKD2.



Obr. č. 6: Horní obrázek: křivka přežití (dosažení end-stage renal disease (ESRD) nebo úmrtí); dolní obrázek: křivka renálního přežití (dosažení ESRD). Převzato z: Hateboer N, v Dijk MA, Bogdanova N, et al. Comparison of phenotypes of polycystic kidney disease types 1 and 2. European PKD1-PKD2 Study Group. *Lancet* 1999;353(9147):103-7.

Rozdíl mediánů věku v době klinické manifestace (bez zahrnutí pacientů diagnostikovaných náhodně nebo na podkladě rodinné anamnézy) je oproti dřívějším publikacím větší, což naznačuje, že řada pacientů s PKD2 si není vědoma své diagnózy a uvažovaný podíl PKD2 mezi ADPKD může být podhodnocený.

Pochopení horší prognózy spojené s PKD1 může být usnadněno srovnáním relativních frekvencí komplikací mezi pacienty s PKD1 a PKD2. Nejvýznamnějším rozdílem je hypertenze, která byla 4x častější mezi pacienty s PKD1. Kromě obecně známých efektů hypertenze na kardiovaskulární a cerebrovaskulární mortalitu v běžné populaci je prokázáno, že hypertenze je spojena s výrazným poklesem renálních funkcí. Tento vztah byl popsán mezi pacienty s chronickým renálním selháním z různých příčin, včetně pacientů s ADPKD (viz výše). Otázkou k diskusi zůstává, zda vysoká incidence hypertenze je příčinou či důsledkem pokročilejší choroby, či kombinace obou.

Makrohématurie je také méně častá mezi PKD2 než mezi PKD1. Epizody výrazné hematurie byly dříve spojovány bez ohledu na věk s horšími renálními funkcemi než přítomnost mikroskopické hematurie. Ačkoli hematurie může představovat marker závažnějšího cystického postižení ledvin, depozita železa v ledvinách po krvácení může dále přispívat k poruše renálních funkcí.

Další velká longitudinální prospektivní studie CRISP (Consortium of Radiologic Imaging study of PKD) byla zaměřena na výzkum renálních cyst u pacientů se známou mutací PKD1/ PKD2 genu (12). Do studie bylo zařazeno 219 pacientů s ADPKD ze 183 rodin; 156 rodin (85%; 185 pacientů) mělo mutaci v PKD1 genu, 27 rodin (15%; 34 pacientů) mělo mutaci v PKD2 genu. Všichni pacienti byli vyšetřováni opakovaně pomocí magnetické rezonance. Pacienti s PKD1 mutací měli

signifikantně větší ledviny, zároveň byl u PKD1 pacientů zaznamenán větší počet renálních cyst a cysty byly většího průměru než u PKD2 pacientů. U PKD1 i PKD2 je počet cyst funkcí času. Bylo rovněž prokázáno, že zatímco rychlost expanze renálních cyst je mezi jednotlivými pacienty s ADPKD odlišná, u daného jedince je tato rychlost v čase konstantní. Průměrná rychlost růstu renálních cyst byla ve skupině PKD1 pacientů 5,68% ročně, ve skupině PKD2 pacientů 4,82% ročně – mezi PKD1 a PKD2 tedy nebyl shledán statisticky významný rozdíl v rychlosti růstu renálních cyst. Vysvětlení rozdílu v cystickém postižení PKD1/ PKD2 pacientů tedy spočívá pouze v časnější a četnější iniciaci vzniku cyst u pacientů s PKD1, nikoli v rychlosti růstu již existujících cyst. Lze tedy konstatovat, že mutace v PKD1/ PKD2 je rozhodující jen pro vznik cyst, nikoli pro jejich expanzi. Dále byla prokázána souvislost mezi většími ledvinami a rychlejší progresí onemocnění, zároveň je větší velikost ledvin spojena s jejich horší funkcí. Byla zjištěna vyšší absolutní i relativní rychlost růstu ledvin i cyst u mužů.

Na základě tohoto pozorování tedy lze konstatovat, že cystogeneze je pravděpodobně dvoufázovým procesem. Zatímco první fáze – vznik cysty – je proces závislý na typu germinální mutace (gen PKD1/ PKD2), je druhá fáze – proces expanze cysty – procesem autonomním, nezávislým na typu germinální mutace.

## 6 DIAGNOSTIKA

Pacienti s ADPKD bývali obvykle diagnostikováni na podkladě symptomů onemocnění v dospělosti. U pacientů narozených před rokem 1950 byl průměrný věk při stanovení diagnózy 39 let, u pacientů narozených v rozmezí 1950-1974 již pouze 27 let. V současnosti se situace dále mění ve prospěch presymptomatické diagnostiky v dětství na podkladě pozitivní rodinné anamnézy – stejné zkušenosti potvrzuje i naše pracoviště. Tím se péče o pacienty s tímto dříve typicky „dospělým“ onemocněním přesouvá i do rukou pediatriů. Vzhledem k současným pokrokům ve znalostech o patogenezi ADPKD a předpokládané budoucí možnosti specifické terapie, jejíž efekt je zřejmě nejvyšší při zahájení léčby v dětském věku (viz kapitola zabývající se terapií), nelze v budoucnosti vyloučit dokonce cílené screeningové vyšetřování dětí v riziku ADPKD.

Diagnózu ADPKD je možné stanovit klinicky nebo molekulárně geneticky.

### 6.1 Klinická diagnostika

Rozhodující je v současnosti diagnostika klinická – pro její stanovení je nezbytné zobrazovací vyšetření ledvin a pozitivní rodinná anamnéza. Základní zobrazovací vyšetření a metoda volby je UZ ledvin. Kritéria pro ADPKD se liší dle věku pacienta – jako pozitivní je do 30 let věku hodnocen nález alespoň 2 cyst (unilaterálně či bilaterálně), 2 cyst v obou ledvinách od 30 do 59 let a 4 cyst v obou ledvinách po 60. roce věku (159). Tato kritéria platí pro onemocnění podmíněná mutací PKD1 i PKD2. Nález solitární renální cysty je dětství vzácný, proto by u všech takových pacientů měla být zvažována diagnóza ADPKD. U dětí v 50% riziku ADPKD (dětí rodičů s ADPKD) je již nález solitární cysty prakticky diagnostický pro ADPKD. 60% dětí s mutací PKD1 má detekovatelné cysty do 5 let věku. Naopak vyloučit diagnózu ADPKD je možné teprve při negativním UZ nálezu ve věku nad 30 let (do věku 30 let je udávána senzitivita 93%) (160, 161). Speciální kapitolou je prenatální UZ obraz ADPKD – charakteristický je obraz hyperechogenních zvětšených ledvin se zvýšenou kortikomedulární diferenciací, cysty mohou, ale nemusí být zobrazitelné, močový měchýř nebývá naplněn (162). Tyto známky však nemusí být patrné až do 3. trimestru. Navíc prenatální sonografie ledvin nemůže odlišit ADPKD od ARPKD.

UZ vyšetření je spolehlivé pro průkaz cyst větších než 1 cm. Při použití citlivějších zobrazovacích metod jako je CT nebo MRI je nutné uplatnění přísnějších kritérií: pro věkovou skupinu 18-29 let: 5 a více cyst, muži 30-44 let a ženy 30-59 let: 6 a více cyst, muži nad 45 let a ženy nad 60 let 9 a více cyst (22).

### 6.2 Molekulárně genetická diagnostika

Standardně a rutinně prováděnou diagnostikou (včetně České republiky) je nepřímá molekulárně genetická diagnostika – vazebná analýza. Využívá se vysoce polymorfních mikrosatelitních markerů (163). Hlavní limitací pro stanovení vazby onemocnění na gen PKD1 nebo PKD2 je informativita vyšetřované rodiny - závisí především na počtu vyšetřených členů rodiny (roste s počtem vyšetřených osob dané rodině). V praxi je na základě vazebné analýzy možno rozhodnout o typu ADPKD u zhruba 50% vyšetřovaných rodin.

Přímá DNA diagnostika (detekce mutací) je nyní v České republice i ve světě prováděna prakticky jen v rámci výzkumu. Dříve zahájena byla přímá DNA diagnostika u genu PKD2 – kratší gen, snadnější analýza. K detekci mutací PKD2 genu je nejčastěji využívána metoda SSCP (Single-Strand Conformation Polymorphism – metoda využívající elektroforetickou separaci 1-vláknové nukleové kyseliny založená na odlišné mobilitě molekuly i při drobně pozměněné sekundární struktuře - často i v jednom páru bází) a heteroduplexová analýza, popisována je i sekvenace celého genu (22). Do současnosti bylo popsáno nejméně 115 mutací PKD2 genu (z toho 85 veřejně dostupných) <http://www.hgmd.cf.ac.uk>. Zhruba ve 35% procentech případů se jedná o nonsense mutace (vedou ke zkrácení proteinového produktu), v 5% o missense mutace (záměna baze vedoucí k substituci aminokyseliny), 49% tvoří frameshift mutace (posun čtecího rámce způsobené insercí/ delecí bází, dochází ke zkrácení proteinového produktu), 11% tvoří splicing mutace (2, 22, 164-167) <http://www.hgmd.cf.ac.uk>. Nebylo zjištěno místo nejčastějších mutací (tzv. hot spot). Častěji jsou popisovány mutace v oblasti CpG dinukleotidů.

V případě genu PKD1 je situace složitější – jedná se o podstatně rozsáhlejší gen, navíc je přímá diagnostika komplikována existencí duplicitních oblastí genu (viz výše) (66). Proto se v přímé diagnostice jako první začalo s analýzou menší unikátní části genu. V této oblasti bylo nalézáno zhruba 10-15% mutací. Analýza duplicitních částí genu PKD1 je záležitostí posledních let, využívá se dlouhé polymerázové řetězové reakce (long-range PCR) a následně detekčních metod DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis – metoda založená na odlišné elektroforetické pohyblivosti DNA s tepelně pozměněnou strukturou) nebo PTT (protein truncation testing – rychlá metoda k detekci terminujících mutací založená kombinací RT-PCR, transkripce a translace) (22, 168, 169). Dosud bylo popsáno nejméně 453 mutací PKD1 genu (z toho 285 veřejně dostupných) <http://www.hgmd.cf.ac.uk>. Asi dvakrát častěji jsou mutace nalézány v oblasti 3'konce PKD1 genu. Příčinou je velké množství dinukleotidů bohatých na cytozin a guanin a možnost jejich možné metylace s následnou spontánní deaminací cytozinu na thymin, což vede k substitucím aminokyselin. Zároveň výskyt repetitivních sekvencí může vést ke sklouzávání DNA polymerázy během replikace a tím ke vzniku insercí/ delecí. K detekci rozsáhlých delecí PKD1 genu je používána tzv. FIGE (field inversion gel electrophoresis – elektroforetická metoda využívající periodických změn polarity elektrod) následovaná Southern blot analýzou. Při studiu 125 pacientů byly zjištěny jen 4 rozsáhlé delece, což ukazuje, že rozsáhlé delece PKD1 genu jsou vzácné (170). V této souvislosti je nutné zmínit rozsáhlé delece zasahující i sousední TSC2 gen a vedoucí k tuberózní skleróze. V genu PKD1 je také popisována přítomnost polypyrimidinového úseku s možností tvorby metastabilní trojšroubovice DNA. Tzv. konverze (výměna úseku DNA) mezi PKD1 genem a homologní oblastí je relativně vzácná – udává se cca 2-3% všech mutací PKD1 genu. Rovněž v PKD1 genu nebyl popsán hot spot, nejvíce známých mutací (27% mutací PKD1) spadá do exonů 15-18 PKD1 genu (1 kb úsek odpovídající 7,7% PKD1 genu). Z hlediska typů mutací se jedná zhruba u 33% pacientů o nonsense mutace, ve 20% o missense mutace, 39% pacientů má frameshift mutaci, 7% splicing mutaci, zbytek

představují komplexní mutace (2, 22, 171) <http://www.hgmd.cf.ac.uk>. Záchyt mutací se liší dle použité metodiky – obvykle cca 50-75% (170) (například DHPLC (denaturing high-performance liquid chromatography – chromatografická metoda založená na odlišných vlastnostech homo- a heteroduplexů) používaná pro PKD1 i PKD2 má zhruba 70% záchyt mutací) (172). Relativně vysoký podíl missense mutací v genu PKD1 je další komplikací přímé DNA diagnostiky – v tomto případě často nelze jednoznačně stanovit, zda se jedná skutečně o mutaci nebo jen o polymorfismus. Navíc je do současnosti popisován vysoký počet odlišných mutací PKD1 – prakticky individuální mutace v každé rodině – daná konkrétní mutace se tudíž vyskytuje v malém počtu exemplářů. Tento fakt dále komplikuje možnost vyslovit se k možnosti eventuálního polymorfismu

Četnost nových mutací v genech PKD1 a PKD2 je u ADPKD odhadována na přibližně 5-8% všech případů (173).

Molekulárně genetická diagnostika bývá používána také v případech, kdy je nezbytné jednoznačné rozhodnutí o diagnóze, například v transplantologii – vyšetření živého dárce orgánu s rizikem ADPKD.

Prenatální diagnostika se u onemocnění ADPKD prakticky neprovádí. Pro relativně dobrou prognózu pacientů s ADPKD je z etických důvodů neopodstatněná – ani průkaz ADPKD u plodu neopravňuje k umělému přerušování těhotenství.

Význam časně diagnostiky a odlišení PKD1 a PDK2 spočívá především v predikci klinického průběhu onemocnění a možnosti včasného zahájení terapie – týká se především léčby komplikací ADPKD. Bylo opakovaně prokázáno, že dřívější léčba komplikací výrazně zlepšuje prognózu pacientů s ADPKD. Nezanedbatelný (především z hlediska rodičů) je i fakt, že u 50% pacientů je možno ADPKD na základě DNA diagnostiky jednoznačně vyloučit.

Etická problematika vyšetřování nesympomatických pacientů je diskutována níže.

## 7 DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKA ADPKD

### 7.1 Diferenciální diagnostika obecně

Prenatálně je pro ADPKD typický UZ nález zvětšených hyperechogenních ledvin. Podobné nálezy byly popsány u ARPKD, Bardet-Biedlova syndromu, Meckel-Gruberova syndromu a Ivemarkova II syndromu. Všechny jmenované klinické jednotky kromě ARPKD jsou spojeny s dalšími malformacemi, což jejich diagnostiku usnadňuje (174). Na významu tak nabývá především odlišení ADPKD od ARPKD. ARPKD ledviny jsou na UZ hyperechogenní, bývají ve srovnání s ADPKD větší, diferenciace kůry a dřeně je u ARPKD snižena (naopak zvýšená je u ADPKD) (175). Pouze sonografický nález na ledvinách dítěte (prenatálně ani postnatálně) však nemůže odlišit ADPKD od ARPKD. Nejdůležitějším vyšetřením pro diferenciální diagnostiku ADPKD a ARPKD tak zůstává sonografický nález na ledvinách obou rodičů (v případě cyst u rodiče se jedná o ADPKD).

Ve věku 1-2 let se u pacientů s ARPKD velikost ledvin zmenšuje, zatímco progredující nefromegalie je specifitější u ADPKD. Přítomnost hepatálních cyst u mladých dospělých pacientů je charakteristická pro ADPKD, zatímco u ARPKD je jsou typické UZ známky Caroliho nemoci nebo jaterní fibrózy (176).

Diferenciálně diagnostické alternativy polycystického postižení ledvin u dětí jsou shrnuty v tabulce 2.

DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKA POLYCYSTICKÉ CHOROBY LEDVIN U DĚTÍ	
Cystické choroby	Syndromy
autozomálně dominantní polycystická choroba ledvin	Meckel-Gruber syndrom
autozomálně recesivní polycystická choroba ledvin	Jeune syndrom a ostatní chondrodysplastické syndromy
glomerulocystická choroba ledvin	Ivemarkův syndrom
<b>Kongenitální a dědičné choroby</b>	Bardet-Biedl syndrom
tuberózní skleróza	Zellwegerův cerebrohepatorenální syndrom
multicystická dysplázie ledvin	Beckwith-Wiedemann syndrom
nephronophthisis complex typ 2	trisomie 9. a 13. chromozomu
glykogenózy	<b>Ostatní</b>
kongenitální nefróza	pyelonefritida
<b>Neoplázie</b>	glomerulonefritida
nefroblastomatóza	bilaterální trombóza renálních žil
bilaterální Wilmsův tumor	obstruktivní uropatie
leukémie/ lymfomy	

Tabulka 2 – diferenciální diagnostika polycystické choroby ledvin u dětí (177)

Celá řada nemocí se může v kojeneckém věku a dětství prezentovat zvětšením ledvin nebo cystami a mohou představovat ve vztahu k ADPKD představovat diferenciálně diagnostický problém (177). Pomocí UZ a izotopového vyšetření mohou být vyložena multicystická dysplázie ledvin a obstruktivní uropatie. Multicystická dysplázie ledvin je obvykle unilaterální s makrocystami různých velikostí, které ji odlišují od ARPKD. Při unilaterálním cystickém postižení je multicystická dysplázie

nejčastější diagnózou. Většina syndromů a ostatních dědičných onemocnění může být od ARPKD a ADPKD obvykle odlišena na základě přidružených symptomů – s výjimkou GCKD (glomerulocystic kidney disease - glomerulocystická choroba ledvin) a někdy také tuberózní sklerózy a von Hippel-Lindauovy choroby. GCKD je vzácné onemocnění charakterizované dilatacemi cystickými dilatacemi Bowmanova prostoru a proximálních tubulů. GCKD může být symptomem řady dědičných, sporadických nebo syndromologických jednotek. Navíc může být GCKD časným histopatologickým projevem ADPKD u mladých pacientů. Tuberózní skleróza je autozomálně dominantní neurokutánní onemocnění, jehož projevem může být hyperplastické cystické postižení libovolné části nefronu. Genetická vazba tuberózní sklerózy i ADPKD na chromozom 16 již byla zmiňována. V některých případech mohou mít pacienti cystické renální postižení bez neurokutánního postižení nebo pozitivní rodinné anamnézy. von Hippel-Lindauova choroba je dominantně dědičné onemocnění charakterizované rozvojem nádorů – karcinom ledviny, feochromocytom, hemangioblastomy oka, páteře a mozečku. Vzácně se tyto pacienti mohou manifestovat symptomy charakteristickými pro ADPKD – cystickým postižením ledvin a pankreatu. K odlišení GCKD, tuberózní sklerózy a von Hippel-Lindauovy choroby od ARPKD a ADPKD jsou nutné detailní rodinná anamnéza, fyzikální vyšetření a další klinické sledování. Tuberózní skleróza a von Hippel-Lindauova choroba mohou být příčinou velkých bilaterálních renálních cyst v neonatálním období. U řady vzácných jednotek se objevují spekulace, že se ve skutečnosti jedná o spontánní mutaci PKD genu, která je součástí těchto syndromů.

V dospělosti je časté získané cystické postižení ledvin – k rozvoji renálních cyst dochází u pacientů v chronickém renálním selhání zařazených do dialyzačního programu. Rozvoj cyst je u těchto pacientů stereotypní a nezávisí na onemocnění vedoucím k renálnímu selhání.

## 7.2 Diferenciální diagnostika mezi ARPKD a ADPKD

Diferenciálně diagnosticky je nejvýznamnější vzájemné odlišení ARPKD a ADPKD (177). ADPKD může být při manifestaci v neonatálním období klinicky neodlišitelné od ARPKD. V takové situaci je nutné podrobné vyšetření zahrnující anamnézu, fyzikální vyšetření, zobrazovací vyšetření, event. histologické vyšetření. Faktory pomáhající v diferenciální diagnostice těchto dvou klinických jednotek jsou shrnuty v tabulce 3, žádný z těchto symptomů sám o sobě však diagnostický není.

DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKA MEZI ADPKD A ARPKD		
Symptomy svědčící pro ADPKD	Symptomy svědčící pro ARPKD	Symptomy společné
pozitivní rodinná anamnéza	perinatální manifestace	zvětšené ledviny
extrarenální cysty	progrese do chron. renál. selh. v dětství	hypertenze
cerebrální aneuryzmata	hepatosplenomegalie	porucha koncentrační schopnosti
asymptomatický průběh	portální hypertenze, jícnové varixy	sterilní pyurie
unilaterální postižení ledvin	bakteriální cholangitida	
hematurie	negativní rodinná anamnéza	
infekce močových cest		

Tabulka 3 – diferenciální diagnostika mezi ADPKD a ARPKD (177)



Rodinná anamnéza je často nejpodstatnější. Musí být provedeno UZ vyšetření rodičů dítěte se zaměřením na průkaz jaterních a renálních cyst. V případě, že jsou rodiče mladší než 30 let, doplňuje se UZ vyšetření prarodičů (4-5% pacientů s ADPKD nemá průkazné cysty do 30 let věku). Vyloučení polycystické choroby u dalších členů rodiny zvyšuje pravděpodobnost ARPKD – jen 5-8% případů ADPKD je způsobeno novou mutací. V některých případech může o typu onemocnění rozhodnout zobrazovací vyšetření, u 20-30% případů jsou však přítomny znaky obou onemocnění. Při přetrvávajících nejasnostech je možné provést i histologické vyšetření, které se však provádí zcela raritně. Při specifickém histologickém barvení pomocí segment-specifických lektinů je možno odlišit kortikální houbovitě cysty pocházející ze sběrných kanálků u ARPKD od heterogenních cyst u ADPKD. V jaterní biopsii může být u ARPKD prokázána typická biliární dysgeneze. Do budoucna se předpokládá rostoucí význam molekulárně genetické diagnostiky.

## 8 PROGNOZA

### 8.1 Velmi časná manifestace ADPKD

Prognóza ADPKD manifestujícího se prenatálně či v novorozeneckém období zůstává nejistá – většina prací popisuje relativně malé skupiny pacientů sledované po krátké období neumožňující jednoznačné stanovení přežívání a posouzení vývoje ledvinných funkcí v čase. Dřívější názory na poměrně jednoznačně nepříznivou prognózu těchto pacientů jsou nyní některými pracemi korigovány, byly popsány i malé soubory pacientů s relativně příznivým vývojem onemocnění a dobrou funkcí ledvin.

Skupina dětí s velmi časným nástupem ADPKD (very early onset of ADPKD = VEO ADPKD), který je definován jako prenatální/ v prvních 18 měsících života manifestovaná ADPKD, je velmi zajímavou kohortou a pro svoji odlišnost z mnoha hledisek – symptomy, komplikace i prognóza – bývá vyčleňována od ostatních pacientů. Situace je komplikována mimo jiné zdokonalením prenatální UZ diagnostiky, která vede k lepšímu zachytu těchto dětí v posledních letech. Existuje řada studií zabývajících se speciálně těmito pacienty. Jak již bylo naznačeno, výsledky těchto studií jsou velmi rozporuplné.

Fick et al. publikovali (r. 1993) studii dokumentující charakteristiky velmi časně manifestace ADPKD na 11 dětech z 8 rodin (13). Šest dětí bylo diagnostikováno prenatálně (tři náhodně, tři pro anamnézu velmi časně manifestace u sourozence), pět dětí v prvním roce života (čtyři děti pro symptomy, jeden pacient byl postnatálně UZ vyšetřován cíleně na průkaz ADPKD). Osm z jedenácti dětí byly dívky, všichni postižení rodiče byly matky. V třech rodinách byla diagnóza u rodičů stanovena až po narození dítěte s ADPKD. Ve dvou z těchto rodin a v jedné další bylo onemocnění pravděpodobně výsledkem čerstvé mutace. Nejcharakterističtějším UZ nálezem u dětí byly zvětšené ledviny a hyperechogenita ledvin. V dalším sledování trvajícím 3-15 let (průměrně 6,8 roku) dvě děti dospěly do chronického renálního selhání a osm dětí mělo dle clearance kreatininu normální nebo téměř normální renální funkce. Koncentrační schopnost byla snižena u všech čtyř dětí, u kterých byla stanovována. U devíti dětí se rozvinula hypertenze.

Potenciální rizikové faktory pro VEO ADPKD vyplývající z této studie tedy jsou ADPKD u matky, sourozence, nová mutace. Výskyt symptomů a komplikací byl častý, nicméně celková prognóza relativně příznivá ve srovnání s předchozími publikacemi.

MacDermot et al. ve svém článku (r. 1998) zabývajícím se prognózou časně manifestovaného ADPKD shrnují dostupné publikované údaje (14). Ve skupině 83 dětí (ze studie vynechána uměle ukončená těhotenství) s ADPKD manifestující se prenatálně nebo v prvních měsících života 43% pacientů zemřelo do 1 roku věku na respirační nebo renální insuficienci. Ve dvou studiích bylo sledováno 24 dětí – u 67% z nich se rozvinula hypertenze, 3 z nich dospěli do fáze chronického renálního selhání v průměrném věku 3 let.

Shamshirsaz et al. (r. 2005) ve své studii popsali 46 dětí s VEO ADPKD a 153 dětí diagnostikovaných po 18 měsících věku (non-VEO ADPKD) (178). Děti s VEO ADPKD měly po věkové korekci větší počet renálních cyst a větší objem ledvin ve srovnání s dětmi s non-VEO ADPKD. V obou skupinách byl výskyt symptomů onemocnění v době diagnózy a hematurie a proteinurie v průběhu studie asociován s větším objemem ledvin. Děti s VEO ADPKD a děti diagnostikované na podkladě symptomů onemocnění měly větší prevalenci hypertenze. Dvě děti s VEO ADPKD a žádné dítě s non-VEO ADPKD dospěly v průběhu studie do stádia chronického selhání ledvin. V kontrastu se staršími pracemi zabývajícími se VEO ADPKD jsou i výsledky této nové práce optimistické – více než 90% dětí s VEO si udržuje normální renální funkce do dospělosti.

Boyer et al. (r. 2007) popsali 26 dětí s ADPKD diagnostikovaných na podkladě prenatalního UZ vyšetřování (175). U všech byly v období mezi 12. týdnem těhotenství a porodem zjištěny zvětšené hyperechogenní ledviny. 16 z 26 dětí zdědilo mutaci maternálně – vliv maternálního/paternálního původu mutace na průběh ADPKD zde tedy nebyl potvrzen. Klinické symptomy v průběhu celého sledování zahrnovaly oligohydramnion (5/26), pneumothorax v neonatálním období (3/26), pyelonefritidu (5/26), těžkou hematurii (2/26), proteinurii (2/26), hypertenzi (5/26) a chronickou renální insuficienci (2/26). Střední doba sledování byla 76 měsíců (0,5-262 měsíců). Při posledním vyšetření bylo 19 dětí asymptomatických (průměrný věk 5,5 roku), 5 mělo hypertenzi (průměrný věk 8,5 roku), 2 měli proteinurii (průměrný věk 9,7 roku) a 2 byli ve stádiu chronické renální insuficience (průměrný věk 19 let). Děti s postnatálně zvětšenými ledvinami měly tendenci k horšímu průběhu než pacienti s normální velikostí ledvin. U velkého procenta sourozenců se časně rozvinulo cystické postižení ledvin (z 25 sourozenců mělo 7 cysty – 2 sourozenci prenatalně, 5 sourozenců v dětství).

Lze konstatovat, že většina pacientů s prenatalně diagnostikovanou ADPKD mělo v této studii dobrou prognózu – alespoň v dětství. Pohlaví rodiče předávajícího mutaci nebylo rizikovým faktorem pro prenatalní rozvoj ADPKD.

Velmi významným nálezem je fakt, že u všech pacientů s časným s VEO ADPKD testovaných na typ kauzální mutace byla prokázána mutace v genu PKD1.

Při hledání prognostických markerů VEO ADPKD byla studována řada faktorů. Nejspolehlivějším prognostickým markerem pro přežívání kojenců s VEO ADPKD se zdá být množství amniotické tekutiny – s normálním množstvím se pojí dobrá prognóza (179). Podle nejrecentnější práce studující fetální sérové koncentrace beta2-mikroglobulinu a cystatinu C u pacientů s prenatalním záchytem hyperechogenních ledvin se jejich zvýšené sérové fetální koncentrace pojí se špatnou postnatální renální funkcí a mohou být použity jako prognostické markery (180).

Údaje o incidenci prenatalního nálezu cyst se značně liší - některé práce udávají prenatalní průkaz cyst u 2% pacientů s ADPKD. V této souvislosti je však nutno brát v úvahu prudký vývoj

zobrazovacích metod – zejména zdokonalení UZ přístrojů používaných v prenatalní diagnostice. V současných studiích je často nalézáno vyšší zastoupení prenatalního cystického postižení ledvin, zároveň bývá recentních pracích uváděna zmiňovaná lepší prognóza u časného nástupu ADPKD. Tato pozorování je možno vysvětlit právě detekcí mírnějších forem ADPKD, které dříve unikaly pozornosti díky nižší rozlišovací schopnosti používaných UZ přístrojů.

## 8.2 Manifestace ADPKD v dětství a v dospělosti

Pozdější manifestace v dětském věku (non-VEO ADPKD) je spojena s jednoznačně dobrou prognózou, udržováním normálních renálních funkcí do dospělosti a jen zcela výjimečnou progresí do CHSL ještě v dětství (121). Nicméně i v této skupině dětí dochází k postupné progresi ADPKD spojené s řadou individuálně vyjádřených symptomů a komplikací. Pro zmiňované dobré udržování renálních funkcí byly hledány další prognostické markery kromě sérového kreatininu a clearance kreatininu. Jedním z nalezených markerů je velikost ledvin a tíže cystického postižení - rychlejší progresi bývá zmiňována u pacientů s významným zvětšením ledvin v časném věku (121). Jako marker závažnějšího průběhu byla identifikována proteinurie. Pro udržení dobré prognózy onemocnění je nezbytné zjištění a terapie komplikací ADPKD – na prvním místě hypertenze, proteinurie a infekce močových cest. Při jejich špatné kontrole jsou rovněž asociovány se špatnou prognózou.

V dospělosti až 77% pacientů zemře nebo dosáhne end-stage renal disease (ESRD) do věku 70 let, k CHSL dochází nejčastěji v 5. až 6. deceniu. Nejpodstatnější pro individuální prognózu daného pacienta je genotyp – pacienti s mutací v PKD1 mají výrazně horší prognózu než pacienti s mutací PKD2. V literatuře bývá udáván věk CHSL u PKD1 53,0, u PKD2 69,1 roku (11). Individuální predikce doby CHSL však zůstává komplikovaná pro velkou inter-/ i intrafamiliární variabilitu průběhu onemocnění. Od nástupu chronické renální insuficience bývá udáván typický pokles GFR přibližně 2-3 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> ročně, podle některých prací mírně rychlejší u mužů než i žen. Pokles GFR koreluje se zvětšujícím se objemem cyst (a s ním spojeného úbytku funkčního parenchymu ledvin) a s rychlostí zvětšování objemu ledvin. Oba tyto parametry proto bývají pokládány za možný marker progresi onemocnění. Některé práce za možný marker progresi ADPKD považují také stanovení průtoku krve ledvinou (181, 182).

Jedna ze studií zabývající se vztahem mezi zvětšováním objemu ledvin, hypertenzí a zhoršováním renálních funkcí byla provedena na univerzitě v Coloradu (181) - v letech 1985 až 2001 bylo longitudinálně sledováno 229 dospělých pacientů s ADPKD. Pacienti byli opakovaně vyšetřováni pomocí UZ, byl počítán objem ledvin a glomerulární filtrace (GFR). Průměrný roční přírůstek objemu ledvin byl 46±55 cm<sup>3</sup>, průměrný roční pokles GFR byl 2,4±2,8 ml/min/1,73m<sup>2</sup>. U mužů byl zjištěn rychlejší růst objemu ledvin, těžší hypertenze a rychlejší pokles GFR než u žen odpovídajícího věku. Byla prokázána pozitivní korelace mezi rychlostí poklesu GFR a rychlostí růstu objemu ledvin, počátečním objemem ledvin, proteinurií a počátečním věkem. Objem ledvin a rychlost jeho růstu tedy

mohou být použity jako markery progresu ADPKD v časných stádiích onemocnění, když GFR je normální.

Studie CRISP prezentuje data pocházející z longitudinálního sledování 241 pacientů ve věku 15-46 let s normální glomerulární filtrací pomocí magnetické rezonance po dobu 3 let s intervalem 1 roku (183). Průměrný počáteční objem ledvin byl oproti normálnímu čtyřnásobný a v průběhu sledování se postupně zvětšil v průměru o  $204 \pm 246$  ml a o  $218 \pm 263$  ml. Vstupní objem ledvin koreloval v průběhu sledování negativně s věkem a renálními funkcemi – největší pokles glomerulární filtrace (5 ml/min. a rok) byl zjištěn u pacientů starších než 30 let a u pacientů se vstupním objemem ledvin nad 1500 ml.

U dětí byla při longitudinálním sledování zjištěna podobná data – u dětí se závažnějším postižením ledvin na počátku sledování (ve studii definováno jako objem ledviny o více než 25% nad střední hodnotu predikovanou pro daného pacienta) bylo pozorováno výraznější zvětšení za rok ( $26 \pm 3$  ml oproti  $11 \pm 2$  ml) (121). Počáteční zvětšení ledvin také korelovalo v dalším sledování se závažností nemoci, s časným nástupem hypertenze a zhoršováním renálních funkcí.

V roce 2001 byla publikována rozsáhlá studie zabývající progresí onemocnění a rizikovými faktory rychlejší progresu ADPKD u dětí (121). Od roku 1985 bylo longitudinálně sledováno 312 dětí s ADPKD ze 131 rodin. U dětí s ADPKD byl ve srovnání se zdravými prokázán rychlejší růst ledvin. Ve skupině dětí s ADPKD byla u dětí s výrazným zvětšením ledvin v nízkém věku v dalším sledování pozorována vyšší rychlost růstu ledvin než u dětí s normální nebo mírně větší velikostí ledvin. U dětí s ADPKD, které měly hypertenzi, byla zjištěna vyšší rychlost růstu ledvin. Pokles GFR nebyl zaznamenán – kromě dvou dětí s velmi těžkým VEO ADPKD. Tedy i v této studii na dětech byly markerem progresu ADPKD rychlost růstu ledvin a počet cyst.

U ADPKD bývá v souvislosti s věkem při manifestaci onemocnění diskutována tzv. anticipace (časnější nástup nemoci u dětí postižených rodičů). Výsledky studií jsou však v těchto pozorováních rozporuplné.

Fick et al. popsal u 53% rodin z celkového počtu 86 vyšetřovaných rodin s ADPKD o 10 a více let časnější manifestaci nemoci u potomků postižených rodičů. K selhání ledvin došlo o více než 14 let dříve u pacientů s mutací zděděnou od matky ve srovnání s pacienty, kteří mutaci zdědili od otce. U dvojčat byla pozorována 25% shoda v časně manifestaci nemoci.

Je tedy možné shrnout, že za rizikové faktory rychlejší progresu a horší prognózy u ADPKD jsou považovány následující – onemocnění způsobené mutací v PKD1 genu, mužské pohlaví, nižší věk při stanovení diagnózy, přítomnost hypertenze, hematurie, proteinurie, urolitiáza, opakované infekce močových cest, časnější nástup hypertenze a hematurie, závažnější cystické postižení ledvin

(velký počet cyst, velký objem ledvin), časný nástup chronického renálního selhání (125, 136, 137, 158, 184-186).

Časná forma ADPKD a signifikantně horší prognóza je nalézána u pacientů s koincencí ADPKD a tuberózní sklerózy, u rozsáhlých delecí PKD1 a u pacientů s koincencí PKD1 a PKD2 mutace (22, 177).

Délka života pacientů s ADPKD se v posledních desetiletích díky úspěšné RRT (renal replacement therapy) podstatně prodlužuje, přínos je patrný zejména u pacientů s mutací v PKD1. V příčinách úmrtnosti se na čelní místa dostaly kardiovaskulární příčiny a infekční komplikace (187).

## 9 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ PROGRESI ADPKD

Pro progresi ADPKD vedoucí k chronickému renálnímu selhání je typická jak velká variabilita mezi jednotlivými postiženými rodinami, tak i mezi postiženými jedinci téže rodiny (177). V extrémních případech jsou cysty přítomny u některých jedinců již prenatálně nebo v časném dětství a progredují do renálního selhání před 40. rokem věku, zatímco u jiných renální funkce zůstávají nepostižené po celý život. Interfamiliární variabilitu průběhu onemocnění lze částečně vysvětlit typem germinální mutace – gen PKD1/ PKD2.

Pro vysvětlení intrafamiliární variability onemocnění je však třeba uvažovat další mechanismy. Navíc je známo, že k rozvoji cyst v ledvině dojde zhruba jen u 1-5% nefronů z jejich celkového počtu. Progresi onemocnění tedy ovlivňují kromě zárodečné mutace ještě další genetické faktory – somatické mutace a modifikující geny, a faktory prostředí.

### 9.1 Zárodečné mutace v PKD1/ PKD2

Pacienti s mutacemi v genu PKD1 i PKD2 mají sice ve výsledku kvalitativně podobný fenotyp – mutace v obou genech vedou k postižení stejných orgánů, vyvolávají stejnou skupinu příznaků. Míra postižení („kvantitativní charakteristiky“) se však v závislosti na genotypu dramaticky liší. V mnoha studiích byl prokázán u PKD2 pacientů mírnější průběh onemocnění než u PKD1 pacientů. Mutace PKD2 vedou k pozdějšímu nástupu cystického postižení, pomalejší progresi do CHSL (až o cca 20 let později než PKD1), menší frekvenci infekcí močových cest, hematurie i extrarenálních komplikací – nižší výskyt hypertenze, a dalších. Podrobně se touto manifestací zabývá kapitola Korelace genotypu a fenotypu.

### 9.2 Typ mutace v PKD1 a PKD2

Při přímé DNA diagnostice je u ADPKD prokazován velký počet různých mutací PKD genů. Jak bylo uvedeno, téměř každá rodina má svoji vlastní mutaci, stejně jako u jiných autozomálně dominantních a X-vázaných onemocnění, u kterých jsou zakladatelské mutace vzácné. U některých onemocnění byly popsány jasné vztahy mezi genotypem a fenotypem. Lze uvést příklad svalových dystrofií, kde inaktivující mutace vedou k časným a letálním formám nemoci - Duchennova muskulární dystrofie, zatímco protein modifikující mutace obecně vedou k mírnější Beckerově muskulární dystrofii. Podobně u nádorů tlustého střeva terminující mutace genu APC (adenomatous polyposis coli) mezi kodonem 200 a 1600 obvykle vede k vysoké multiplicitě tumoru (> 100 polypů), zatímco mutace před kodonem 200 a za kodonem 1600 normálně vedou k redukované multiplicitě polypů.

Detekce mutací v PKD1 je obtížná, ale celkový počet identifikovaných mutací v posledních letech stoupá a umožňuje studie srovnávající genotyp a fenotyp. V případě onemocnění ADPKD byly v některých pracích popsány velmi časný nástup nemoci a horší prognóza u rodin s mutacemi proximálně v PKD1 genu (exon 15) a distálně (exon 41), u mutací v oblasti 5' konce genu PKD1 bývá udáván vyšší výskyt mozkových aneurysmat (66, 188). Jiná práce se zabývala vzájemným srovnáním průběhu onemocnění pacientů s mutacemi v oblasti 3' a 5' konce PKD1 genu (189) (celkem 80

sledovaných rodin) – průměrný věk v době chronického renálního selhání byl v první skupině 54 let, ve druhé skupině 49 let. Ke stanovení korelace mezi genotypem a fenotypem je však nezbytné vyšetření velkého počtu pacientů s identifikovanou mutací. Situace je zde komplikována rozsáhlými homologními sekvencemi PKD1 genu s jinou oblastí na chromozomu 16.

Význačný fenotyp byl popsán u pacientů s tuberózní sklerózou a těžkou časnou formou ADPKD – byly u nich nalezeny rozsáhlé delece, chybí zde většina PKD1 genu a sousední TSC2 gen (66, 190, 191). Vrozená mutace kteréhokoli z těchto genů může být spojena s cystickým fenotypem a určení vzájemného podílu obou z genů je obtížné. Nicméně fakt, že mutace PKD1 genu vedoucí k produkci krátkých fragmentů polycystinu 1 nevedou k časnému nástupu ADPKD, naznačuje, že se na fenotypu podílí oba geny. Bylo prokázáno, že polycystin 1 interaguje s produktem genu pro tuberózní sklerózu 2 (TSC2 gen) – tuberinem. Abnormality tuberinu vedou k rozvoji tuberózní sklerózy – multiorgánovému onemocnění zahrnujícího mimo jiné také cystické postižení ledvin. Vzájemná interakce polycystinu 1 a tuberinu vede za normálních okolností k inhibici mTOR (mammalian target of rapamycin - cílová struktura pro rapamycin u savčích buněk) (192). U pacientů s ADPKD k této interakci nedochází, což vede k aktivaci mTOR a tím následné buněčné hyperplázii a dediferenciaci (193).

Detekce mutací v PKD2 je méně komplikovaná a mnohé byly jednoznačně prokázány (včetně missense mutací). Přestože některé práce naznačují, že mutace v jednotlivých částech genu PKD2 mohou mít odlišný dopad na fenotyp onemocnění, nebyl dosud pro gen PKD2 jednoznačný vztah mezi lokalizací mutace a fenotypem a mezi typem mutace (missense/ nonsense) a fenotypem dosud potvrzen (194). Spekuluje se o odlišných fenotypech pacientů s různými nonsense mutacemi PKD2 genu, ale výsledky jsou založeny na popisu malého počtu rodin a navíc dosud není jasné, do jaké míry jsou zkrácené polycystiny 2 stabilně exprimovány a jaký je jejich funkční efekt v renálních epiteliálních buňkách.

Imunohistochemickým vyšetřením pomocí protilátek proti různým epitopům polycystinů byla prokázána jejich přítomnost zhruba u 70- 80% renálních cyst (viz kapitola zabývající se genetikou ADPKD). Tento průkaz však samozřejmě nevypovídá nic o jejich funkci. V současnosti se naopak předpokládá, že některé mutace polycystinů nevedou přímo k úplné ztrátě jejich funkce. Tato reziduální funkce mutovaných polycystinů je v souladu s teorií o nutnosti druhé somatické mutace – tzv. druhý zásah (194).

### **9.3 Model druhého zásahu, haploinsuficience, trans-heterozygotní model**

Novým pohledem na vznik a vysokou variabilitu progresu onemocnění přináší v poslední době teorie tzv. druhého zásahu, haploinsuficience a trans-heterozygotní model.

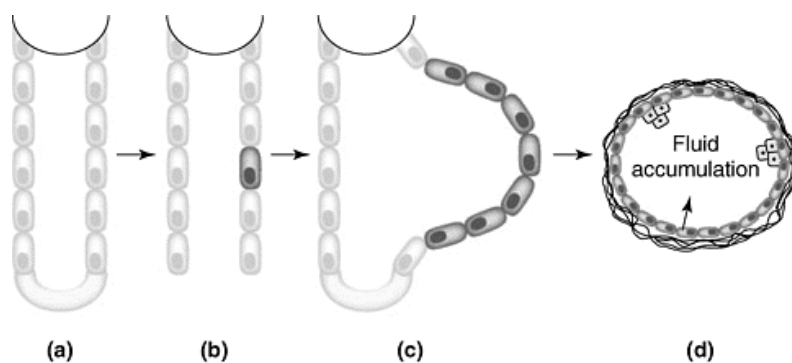
#### **9.3.1 Model druhého zásahu**

Velký význam v patogenezi onemocnění je v současnosti přikládán tzv. modelu druhého zásahu a ztrátě heterozygotnosti (2, 66, 71, 92, 195-198). Podle této teorie může být tvorba cyst u ADPKD vázána na druhou somatickou mutaci (druhý zásah) zbývající divoké kopie PKD genu (a tím



její inaktivaci) (199). Tento mechanismus je standardně přijímán jako model některých dědičných nádorových onemocnění – např. kongenitálního retinoblastomu. Řada klinických pozorování a některé výsledky experimentů jsou ve shodě s touto teorií (75, 200, 201). K somatické inaktivaci druhé alely genu PKD ale může dojít pouze u podskupiny cyst – což vyvolává otázku, zda jsou druhé mutace časnou událostí startující tvorbu cyst nebo pozdní událostí vyskytující se v podskupině cyst (a tím urychlující jejich progresi) (51, 54). V obou případech může stochastická povaha druhé mutace pomoci vysvětlit variabilitu v průběhu onemocnění v dané rodině.

Studie prováděné na mikroresekátech ledvin pacientů s ADPKD potvrdily klonální původ epiteliálních buněk cyst, což svědčí pro nutnost somatické mutace na začátku procesu cystogeneze (obr. č. 7). Lze tedy konstatovat, že ačkoliv má ADPKD autozomálně dominantní charakter dědičnosti, na molekulární úrovni se chová autozomálně recesivně.



Obr. č. 7: Schematický model vzniku cysty u tzv. modelu druhého zásahu: (a) všechny tubulární epiteliální buňky obsahují germinální mutaci v PKD genu; (b) v jedné buňce dochází k somatické mutaci divoké alely PKD genu; (c), (d) klonální proliferace této buňky vede k dilataci tubulu a tvorbě cysty (převzato z [www.nature.com](http://www.nature.com))

Somatické mutace byly v případě genu PKD1 skutečně prokázány u 17-24% zkoumaných renálních cyst (a až u 40% hepatálních cyst). Nejčastěji se jedná o rozsáhlé delece nebo nonsense mutace vedoucí k produkci zkráceného proteinu. Somatické mutace bývají nalézány vždy v původně nepostížené alele genu, což podporuje teorii, že tyto mutace jsou příčinou tvorby cyst. Teorie byla později potvrzena i u genu PKD2 – jeho somatické mutace byly nalezeny u 22-43% renálních cyst (202, 203). Navíc byla v deseti cystách ze tří různých ledvin nalezena shodná somatická mutace 197-203insC (toto místo bylo u genu PKD2 identifikováno jako místo relativně vyššího výskytu mutací) - tato inzercce však byla potvrzena i jako germinální mutace. Torra et al. publikovali výsledky podrobného zkoumání 30 cyst od jednoho pacienta s ADPKD podmíněným rozsáhlou delecí PKD2 (75). Ztráta divoké alely byla prokázána u 10% cyst. Testováním šesti exonů genu bylo nalezeno osm různých somatických mutací – všechny vedoucí k produkci zkráceného proteinu. Celkem byly somatické mutace prokázány u minimálně 37% studovaných cyst (198, 200, 201).

Rovněž studium myšího modelu PKD2 WS25/- naznačuje, že teorie druhého zásahu je molekulárním mechanismem ADPKD (204). Model byl vytvořen cílenou mutací v PKD2 – mutovaný

exon 1 existuje v tandemu s divokým exonem 1. To způsobuje nestabilitu alely, která podléhá sekundárním rekombinacím a následně se chová jako nefunkční. Proto model PKD2 WS25/- přenášející nestabilní alelu a knock-outovanou alelu podléhá během vývoje i dospělosti somatickým „druhým zásahům“ a chová se jako věrný model lidského ADPKD.

Jak bylo uvedeno v kapitole zabývající se korelací genotypu a fenotypu u ADPKD – u pacientů s mutacemi PKD2 genu vzniká méně cyst a jejich iniciace je pozdější (12). Toto pozorování může být také ve shodě s teorií druhého zásahu, která předpokládá nutnost somatické mutace pro vznik cyst. Mnoho faktorů totiž nahrává vyšší četnosti somatických mutací genu PKD1 ve srovnání s PKD2 - kódující oblast PKD1 je podstatně rozsáhlejší než u PKD2 (12,9 kb oproti 3 kb), mezi další důvody patří zmiňované velké množství dinukleotidů bohatých na cytozin a guanin, polypyrimidinový úsek, výskyt šesti pseudogenů. Důkazem pro náchylnost genu PKD1 k somatickým mutacím je i frekvence pozorovaných nových germinálních mutací tohoto genu.

### 9.3.2 Haploinsuficience

Dalším obecně platným faktem je podstatně vyšší variabilita genové exprese v případě, že se v buňce vyskytuje pouze 1 funkční alela daného genu (ve srovnání s buňkou obsahující obě plně funkční kopie genu) (205). Uplatnění tohoto modelu tzv. haploinsuficience je možné předpokládat u rozsáhlých delecí a nonsense mutací genů PKD1 i PKD2 vedoucích k produkci krátkých fragmentů polycystinů. Protože jsou polycystiny součástí struktur a funkčních mechanismů nutných pro udržování diferencovaných epiteliálních buněk ledvinných tubulů, mohou zvýšené nepravidelnosti v genové expresi ovlivňovat buněčnou proliferaci, diferenciaci a funkci nepředvídatelným, stochastickým způsobem.

### 9.3.3 Trans-heterozygotní model

Třetím faktorem je tzv. trans-heterozygotní model – podrobnou genetickou analýzou byly identifikovány somatické mutace PKD2 genu v některých subpopulacích epiteliálních buněk renálních cyst u pacientů s germinální mutací PKD1 genu a obráceně (206, 207). Skutečná frekvence těchto mutací a jejich význam pro progresi onemocnění je však dosud nejasné a jsou předmětem výzkumu (208). Zdá se, že četnost těchto mutací by se mohla pohybovat kolem 10% cyst.

Všechny tři popsané mechanismy (druhý zásah, haploinsuficience i trans-heterozygotní model) tedy mohou svojí stochastickou povahou být alespoň částečným vysvětlením rozdílné rychlosti progresu nemoci mezi pacienty s ADPKD.

## 9.4 Modifikující geny

Kromě vlastních genů PKD1 a PKD2 rozhodujících o prognóze onemocnění je průběh ADPKD modifikován řadou dalších genů, na jejichž identifikaci se v současnosti pracuje (209). Podmínkou pro ovlivnění fenotypu je existence více rozdílných funkčních variant genu – polymorfismy/mutace v kódujících nebo regulačních sekvencích, které ovlivňují expresi nebo aktivitu nebo interakce genového produktu. Právě na regulační sekvence PKD1 a PKD2 genu se v současnosti zaměřuje velká pozornost (210). Patří sem tedy geny ovlivňující funkci polycystinů (včetně genů,

jejichž produkty tvoří součást komplexu s polycystiny nebo se účastní na přenosu signálu od polycystinů), geny ovlivňující proces cystogeneze, frekvenci somatických mutací, klinické faktory rozhodující o progresi ADPKD a jeho komplikacích, a další (211, 212).

#### 9.4.1 Geny ovlivňující hypertenzi

Nejmarkantnější vliv na funkci ledvin u ADPKD pacientů mají geny uplatňující se v patogenezi primární hypertenze (185). Hypertenze je nejvýznamnějším faktorem souvisejícím se špatnou prognózou ADPKD u daného pacienta, stejně tak je jednoznačně prokázána horší prognóza dětí s alespoň jedním rodičem majícím primární hypertenzi (134). Z dosud prověřovaných možností je možné uvést výsledky zabývající se vlivem polymorfismu endoteliální NO syntázy (eNOS), polymorfismu genu angiotenzin-konvertujícího enzymu (ACE) a adducinu na progresi ADPKD.

**eNOS.** Endoteliální NO syntáza částečně kompenzuje angiotenzinem II indukovanou vazokonstrikci (213) a chrání proti reaktivním kyslíkovým sloučeninám. Gen eNOS byl lokalizován na 7. chromozomu, skládá se z 26 exonů. Podávání inhibitoru NO syntázy L-NAME ve zvířecím modelu urychluje progresi onemocnění u samic krys s polycystickým onemocněním ledvin (214). Na základě popsaného patofyziologického mechanismu byly u lidí s ADPKD vytipovány jako kandidátní modifikující faktory 3 polymorfismy: glutamová/ asparagová kyselina na pozici 768 (Glu768Asp), intron 4 VNTR (variable number tandem repeats), polymorfismus T-786C v promotoru.

U polymorfismu Glu768Asp je přítomnost kyseliny asparagové spojena se sníženou aktivitou eNOS v renálních arteriích – je pravděpodobně způsobena posttranslační modifikací a větší náchylností k hydrolýze enzymu. Tento vliv je patrný pouze u mužů (estrogeny mají vliv na eNOS a tím dále mění tvorbu oxidu dusnatého). U 93 mužů s ADPKD byl zjištěn významně nižší věk chronického renálního selhání u pacientů s 768Asp (22).

V intronu 4 je znám VNTR polymorfismus: kratší „a alela“ ze 4 repetice/ delší „b alela“ z 27 repetice. „a alela“ je spojena s o 20% vyšší hladinou NO v plazmě. Výsledky jedné studie svědčí pro protektivní vliv „a alely“ na průběh ADPKD (215). I v dalších pracích byl nalezen nevýznamně vyšší věk chronického selhání ledvin u ADPKD u „a alely“. Navíc byla nalezena asociace mezi „a alelou“ a 768Glu.

Polymorfismem T-786C v promotoru podle některých prací vede k nižší hladině NO. Vliv tohoto polymorfismu na průběh ADPKD však nalezen nebyl.

**ACE.** Byl studován vliv I/D polymorfismu v genu pro ACE. Za předpokladu, že renin-angiotenzinový systém má efekt na růst cyst, by odlišná koncentrace ACE asociovaná s tímto polymorfismem měla ovlivňovat progresi onemocnění. Byl proto studován možný protektivní vliv I/D polymorfismu. V jedné studii byla zaznamenána vysoká prevalence DD genotypu u hypertenzních pacientů s ADPKD ve srovnání s normotenzními ADPKD pacienty. Výsledky dalších podobně zaměřených prací jsou však rozporné stejně jako v případě mnohých podobných ACE I/D studií u jiných onemocnění, které naznačují, že efekt ACE I/D polymorfismu musí být velmi diskrétní (pokud vůbec existuje) (216-218).

**Adducin.** Adducin je heterodimerický membránový protein, který se v buňkách účastní řady procesů - interaguje s aktinovým cytoskeletem, ovlivňuje signalizaci, má vliv na umístění Na-K-ATPázy v membráně. Na zvířecím modelu i u lidí s hypertenzí byla prokázána jeho zvýšená hladina. Vliv polymorfismů genu pro adducin na průběh ADPKD však zjištěn nebyl (22).

#### 9.4.2 Ostatní modifikující geny

Existují studie popisující větší délku života i renálního přežívání u žen – možné vysvětlení navrhané některými autory by potenciálně mohlo spočívat v protektivním vlivu estrogenů u žen a protektivním vlivem ženského pohlaví na celkové přežití (186). Jiný možný významný nálezn je, že testosteron na zvířecím modelu stimuluje sekreci tekutiny a transport solutů u ledvinných buněk (linie psích ledvinných buněk Madin-Darby) (219). Potenciální vysvětlení by mohlo spočívat ve stimulačním vlivu testosteronu na intracelulární koncentraci cAMP a zvýšení exkrece chloridů a tím sekundárně i tekutiny do nitra cyst. Pozorování naznačuje, že testosteron by mohl přispívat k expanzi cyst. Kromě toho orchidektomie příznivě ovlivňuje vývoj renálního selhání u polycystických krys Han:SPRD(220). Rovněž tento vliv pohlaví na průběh ADPKD a hormonální vlivy však bývají u člověka často zpochybňovány.

Opakovaně jsou dokumentovány případy rodin s nepříznivým průběhem onemocnění postihujícím i další generace. Tyto rodiny jsou zkoumány jednak z hlediska typu mutací ve vlastních genech PKD1 a PKD2, jednak i hlediska identifikace dalších potenciálních modifikujících genů.

Další poznatky jsou získávány studiem zvířecích modelů ADPKD, což je možné dokumentovat na příkladu myšího modelu recesivního polycystického onemocnění ledvin. V závislosti na genetickém podkladě zvířata vykazovala variabilní tíži fenotypu a pomocí zpětného křížení byla odhalena existence několika kandidátních lokusů nacházejících se na myších chromozomech 1, 4, 10, 16 a 19 (221-223). Zodpovědné geny lokalizované v těchto oblastech sice dosud nebyly identifikovány, ale minimálně jeden lokus se překrývá s oblastí, ve které je známa lokalizace primární mutace způsobující polycystické onemocnění ledvin u jiných hlodavců.

Jak bylo uvedeno, v podskupinách renálních cyst byly v epitelálních buňkách PKD1 a PKD2 ledvin identifikovány somatické mutace, které narušovaly zbývající normální kopii PKD genu zděděnou od nepostiženého rodiče. Byl také zmíněn transheterozygotní model somatických mutací v PKD2 genu detekovaných v PKD1 ledvině a obráceně. Význam těchto mutací je stále zkoumán, je ale jasné, že frekvence somatických mutací takto může ovlivnit progresi ADPKD. Lze tudíž předpokládat, že polymorfismy v genech, jejichž produkty ovlivňují výskyt nebo chrání před somatickými mutacemi, mohou být pokládány za modifikující geny. Platí, že buňky renálního tubulárního epitelu jsou metabolicky aktivní a spotřebovávají velké množství kyslíku. Navíc bylo potvrzeno, že somatické mutace jsou v těchto buňkách relativně časté a jejich frekvence stoupá s věkem (224). Do této skupiny genů lze tedy řadit i geny účastnící se ochrany buněčných struktur před důsledky oxidativního stresu a tím i náchylnosti ke spontánním mutacím, jako například superoxid-dismutázy (225).

Mezi modifikující geny patří i geny účastníci se cystogeneze. V kapitole popisující cystogenezi byl zmíněn efekt epidermálního růstového faktoru (EGF) na růst cyst. Tento fakt byl i experimentálně ověřen - tvorba cyst byla podstatně redukována u myši s autozomálně recesivním polycystickým onemocněním ledvin, které byly homozygotní pro mutaci v epidermálním růstovém faktoru. Jako potenciální modifikující faktor byl studován i polymorfismus genu pro EGF (polymorfismus dinukleotidové repetice v 1. intronu) ovlivňující jeho aktivitu. Dalším genem majícím pravděpodobně vliv na průběh onemocnění je CFTR – „protektivní“ vliv jeho mutace u pacientů majících současně cystickou fibrózu byl již zmíněn.

Někteří autoři mezi modifikující geny řadí za jistých okolností dokonce vlastní geny PKD1 a PKD2 - byla totiž také popsána rodina s mutacemi v obou genech PKD1 a PKD2. Dva jedinci, transheterozygoti pro obě mutace, měli ve srovnání se členy rodiny s jednou mutací závažnější průběh ADPKD s renálním selháním ve věku 48 a 52 let (226).

Další práce diskutují možnost vlivu pohlaví rodiče, od kterého byla mutovaná alela přenesena. Expres některých genů je ovlivněna rodičovským původem genu. Tento efekt rodičovského původu – tzv. imprinting - může vést k rozdílům v manifestaci a tíži některých onemocnění. U ADPKD je mezi případy s velmi časným nástupem často popisován nadbytek pacientů s maternálním původem onemocnění (227). Mezi dospělými s ADPKD byl v některých pozorováních zaznamenán dřívější věk nástupu ESRD u pacientů, kteří zdědili PKD1 od matky (228), jiné studie naopak tento efekt neprokázaly (18, 229). Absence prokazatelného efektu rodičovského původu mutace na celkové přežití ve velkých populacích PKD1 a PKD2 však nepodporuje efekt imprintingu v případě ADPKD.

Velký prostor pro výzkum představují mutace ovlivňující expresi nebo substituce aminokyselin ve funkčních doménách polycystinů nebo v interagujících proteinech, které mohou snížit nebo zvýšit množství a stabilitu složených proteinových komplexů a ovlivnit signalizační dráhy nutné pro vlastní udržení architektury renálního epitelu.

### 9.5 Vlivy prostředí

Na progresi ADPKD mohou spolupůsobit i vlivy prostředí. Jako příklad se nejčastěji udávají infekce močových cest, které jsou u pacientů s ADPKD relativně častou komplikací a navíc mohou při lokalizaci infekce v cystách a horším průniku antibiotik snadněji přecházet do chronicity. Jejich vliv na progresi postihující intersticiem ledvin včetně fibrogenního účinku a akceleraci ztrát glomerulární filtrace byl již zmiňován. U myši chovaných ve sterilním prostředí byl popsán pomalejší růst cyst a pomalejší snižování glomerulární filtrace (230, 231).

Ve zvířecích modelech byly identifikovány i další exogenní vlivy na progresi renální insuficience. U krys je rozvoj cyst v ledvinách zhoršován podáváním acidifikujících látek, zatímco alkalizující činidla se chovají protektivně. Kromě toho zlepšují průběh polycystické choroby ledvin omezení a modifikace příjmu proteinů (232-236). Výše zmiňované efekty však nebyly jednoznačně prokázány u lidí.

## 10 TERAPIE

Existují dva základní terapeutické přístupy k ovlivnění průběhu a progresu ADPKD. Z historického hlediska první a dosud prakticky jedinou široce a standardně používanou léčebnou strategií u ADPKD je snaha o ovlivnění příznaků onemocnění, která vede ke zpomalení progresu ADPKD. Modelovým příkladem je farmakologická korekce hypertenze, o které je prokázáno, že zhoršuje prognózu pacientů s ADPKD. Naopak druhý moderní přístup k terapii ADPKD je motivován perspektivou cíleného ovlivnění jednotlivých patogenetických kroků a mechanismů účastnících se zejména vlastní cystogeneze a zvětšování objemu renálních cyst. Vychází přitom z nejnovějších poznatků v této oblasti a zvířecích a tkáňových modelů. První z takto navržených terapeutických postupů jsou v současnosti podrobovány klinickým testům a studiím u lidí (120).

### 10.1 Terapie komplikací

Při použití první léčebné strategie jsou asymptomatictí rizikovní pacienti dispenzarizováni na nefrologickém pracovišti a pravidelně vyšetřováni se zaměřením na časnou detekci symptomů onemocnění a rozvoj komplikací. Sledovány jsou jak anamnestické údaje – výskyt infekcí močových cest, makrohematurie, bolesti břicha, tak laboratorní hodnoty – moč a sediment, proteinurie, biochemické markery ledvinných funkcí. Nedílnou součástí jsou pravidelná ultrazvuková vyšetření ledvin – přítomnost a počet/ velikost cyst, velikost ledvin a kontroly krevního tlaku. Léčba ADPKD je při tomto klasickém přístupu zaměřena právě až na ovlivnění komplikací – hypertenzi, bolest, proteinurii, hematurii, infekce močových cest, nefrolitiázu, a další.

Z hlediska zpomalení progresu ADPKD (stejně jako jiných ledvinných onemocnění) je velmi podstatná korekce hypertenze. Terapie hypertenze u ADPKD vychází z patofyziologických předpokladů jejího vzniku. Jak bylo zmíněno, velký význam je přikládán aktivaci renin-angiotenzin-aldosteronového systému (vliv ischemického poškození renálního parenchymu expandujícími cystami) (133). ACE inhibitory jsou tedy u ADPKD lékem volby (237). Existuje předpoklad lepšího efektu při použití ACE inhibitorů a blokátorů angiotenzinových receptorů (tzv. duální blokáda). V současnosti probíhá řada klinických studií u dětí i u dospělých pacientů k ověření vlivu takové terapie (např. HALT-ADPKD trial). Jejich jednoznačný lepší efekt ve srovnání s jinými antihypertenzivy však dosud nebyl prokázán. Naopak u pacientů se sníženou funkcí ledvin a těžkým cystickým postižením ledvin mohou být ACE inhibitory vyvolavatelem reverzibilního renálního selhání (cca 5% pacientů, zvláště při kombinaci terapie s diuretiky). Tento efekt je podmíněn funkčně – snížením eferentní vaskulární rezistence. Proto je nutná monitorace renálních funkcí a kalémie po zahájení terapie ACE inhibitory. Průkaz zvýšeného indexu levé komory již u normotenzních dětí vede k úvahám o zahájení terapie již v časném věku. Bylo rovněž prokázáno, že přísná kontrola hypertenze (TK pod 120/70 torr) ve srovnání se standardní kontrolou TK (TK 130/85 torr) vede k významné regresi hypertrofie levé komory, při 10letém sledování vede i ke zpomalení progresu renální insuficience. Na sledované parametry měla vliv pouze absolutní hodnota TK, nebyl prokázán lepší efekt konkrétního antihypertenziva.

Infekce močových cest (IMC) jsou častou komplikací ADPKD, většina infekcí je způsobena gram-negativními bakteriemi. Možnou komplikací z hlediska terapie IMC je infikování renálních cyst. Eradikace infekce renální cysty je často obtížná i v případě dobré in vitro citlivosti bakteriálního původce infekce, což je dáno špatným průnikem většiny antibiotik stěnou cyst. Nejlepší průnik do cyst je popisován u ciprofloxacinu a sulfonamidů – jsou proto obvykle lékem volby. Naopak peniciliny a aminoglykosidy používané standardně pro léčbu IMC jsou obvykle neefektivní. Adekvátní antibiotická léčba IMC je u ADPKD nezbytná, protože opakované a chronické IMC jsou samostatným rizikovým faktorem progresu onemocnění do renální insuficience. V některých případech je nezbytná i chirurgická drenáž infikované cysty – k identifikaci cysty bývá doporučováno zobrazovací vyšetření magnetickou rezonancí. V těžkých případech je možná i indikace k nefrektomii. Při jakémkoliv instrumentálním vyšetřování močových cest u pacientů s ADPKD je vhodná profylaktická antibiotická terapie.

Chirurgická léčba ledvinných cyst přichází v úvahu v případech velkých cyst, které jsou příčinou dalších komplikací – například obstrukce močových cest nebo bolestí. Metodou volby je obvykle laparoskopická dekortikace/ marsupializace cysty (238).

Přítomnost hepatálních cyst (v dětství vzácné) může být komplikována infekcí cysty. Typická je bolestivost v horním břišním kvadrantu a kromě klasických symptomů infekce bývají elevovány jaterní testy. V terapii se kromě antibiotické léčby doporučuje zároveň chirurgická drenáž infikované cysty, samotná antibiotická léčba nemusí být vzhledem k průniku antibiotika do cysty dostatečná. Výjimečná je při rozsáhlém postižení jater nutnost částečné resekce jater, byly popsány i případy vyžadující transplantaci jater.

K terapii aneurysmat CNS je přistupováno zcela individuálně na podkladě posouzení rizika ruptury a následného subarachnoidálního krvácení - významná je rodinná anamnéza, věk nad 40 let, průměr aneurysmatu nad 10 mm, špatně kontrolovaná hypertenze. Léčebnou možností představuje klipování/ coiling aneurysmat – výběr metody je závislý zejména na četnosti postižení arteriálního řečiště a lokalizací aneurysmat, případně dalších interních rizicích daného pacienta.

Ve stádiu chronického ledvinného selhání následuje standardní léčba prostřednictvím eliminačních metod, postupy a indikace jsou shodné jako u selhání ledvin z jakékoli jiné příčiny. Tzv. renal replacement therapy (RRT = léčba nahrazující funkci ledvin) zahrnuje dle věku peritoneální dialýzu/ hemodialýzu, transplantaci ledviny.

Terapie dalších komplikací ADPKD jako jsou například urolitiáza, hyperlipidémie, prolapsy chlopní, hernie se neliší od běžné populace.

## 10.2 Moderní kauzální terapie

Aktuálním trendem výzkumu léčby pacientů s ADPKD jsou léky ovlivňující proces cystogeneze. Většina poznatků z této oblasti vychází ze současných patofyziologických znalostí o vzniku a progresi cyst, efekt takové léčby je obvykle zkoumán na zvířecích modelech. Ze snahy ovlivnit iniciaci a progresi cystického postižení vyplývá nutnost časného zahájení této terapie –

v dětském věku. Tento fakt zvyšuje nároky na časnou diagnostiku asymptomatických pacientů s ADPKD a zároveň na testování bezpečnosti a event. nežádoucích účinků léků pro dětské pacienty včetně potenciálního vlivu vyplývajícího z jeho dlouhodobého podávání.

Na pacientech majících současně tuberózní sklerózu a ADPKD byl popsán význam aktivace mTOR, který vede k buněčné hyperproliferaci a dediferenciaci. Z tohoto pozorování vychází myšlenka použití sirolimu (rapamycinu) v terapii ADPKD - sirolimus je inhibítoem mTOR, je tedy inhibítoem buněčného růstu a proliferace. Možnost použití sirolimu v terapii ADPKD a předpokládaný pozitivní efekt jeho antiproliferačních účinků na renální tubulární buňky byly ověřovány na zvířecím modelu. Sirolimus byl podáván intraperitoneálně heterozygotním Han:SPRD potkanům (239). U takto léčených potkanů byly pozorovány menší ledviny, menší objem cyst, snížený proliferační index renálních tubulárních buněk (epitelie normálních tubulů i cysticky změněných tubulů) a byl popsán i protektivní vliv sirolimu na vzestup urey. Stejných výsledků bylo dosaženo i u potkanů léčených perorálně (240). V současnosti je sirolimus pro své imunosupresivní účinky schválen a běžně používán v transplantologii - při transplantacích ledvin. Přes hematopoetickou toxicitu je považován za relativně bezpečný a je používán i u dětských pacientů. V současnosti byly schváleny a probíhají klinické studie u dospělých pacientů s ADPKD, ve kterých se studuje efektivita sirolimu na zpomalení progresse onemocnění. V případě průkazu pozitivního efektu je v dalším kroku plánováno rozšíření jeho podávání i na dětský věk.

Další lékovou skupinou s předpokládaným pozitivním efektem na průběh ADPKD jsou antagonisté vazopresinových V2 receptorů. Potenciální role vazopresinu v patogenezi ADPKD je odvozována z pozorování, že plazmatické hladiny vazopresinu jsou více zvýšeny u hypertenzních ADPKD pacientů než u normotenzních ADPKD pacientů. U pacientů s ADPKD i u zvířecích modelů ADPKD je popisována porucha koncentrační schopnosti ledvin, zvýšená hladina vazopresinu a up-regulace aquaporinu 2 (241). Na molekulární úrovni je vazopresin znám jako aktivátor adenylátcyklázy, zvyšuje tedy intracelulární koncentraci cAMP. cAMP hraje zásadní roli v cystogenezi – zvyšuje proliferaci buněk a exkreci Cl<sup>-</sup> iontů apikálním povrchem do lumina cyst a tím sekundárně akumulaci tekutiny v cystách. Efekt podávání antagonisty vazopresinového V2 receptoru (OPC31260) byl zkoušen na zvířecím modelu autozomálně recesivní polycystózy ledvin (ARPKD) a nefronoftízy. Bylo potvrzeno, že časně i pozdní podávání OPC31260 zpomaluje progresi obou testovaných modelů nemocí (242). Další studie s antagonistou vazopresinového V2 receptoru OPC41061 (selektivnější vůči lidskému V2 receptoru) na myším modelu polycystického onemocnění prokázala stejný efekt (243). OPC 41061 (tolvaptan) je již schválen a používán u lidí v terapii městnavého srdečního selhání jako diuretikum. Proběhla studie podávání tolvaptanu v různém dávkování u dospělých dobrovolníků s ADPKD, která shledala jeho dobrou snášenlivost a bezpečnost (244). Hlavní vedlejší účinky léčby tolvaptanem – žízeň a polyurie, které jsou u dospělých dobře tolerované, však mohou představovat komplikace v použití u dětí. V současnosti probíhá klinická studie zkoumající jeho efekt na progresi ADPKD u dospělých pacientů s ADPKD.



Velký význam pro expanzi renálních cyst má zmiňovaná exkrece Cl<sup>-</sup> iontů. Z tohoto poznatku je odvozována možnost použití somatostatinu jako známého inhibitoru exkrece Cl<sup>-</sup> iontů. V klinické studii bylo u pacientů léčených octreotidem (analog somatostatinu s dlouhým poločasem) po dobu 6 měsíců skutečně prokázáno při CT vyšetření zpomalení rychlosti nárůstu renálních cyst (245). Pro možnost zařazení somatostatinu do standardních léčebných postupů ADPKD je však nutno zvažovat jeho cost/benefit vztažený k jeho nežádoucím účinkům. Jedná se především o cholelitiázu a porušenou glukózovou toleranci. Stejně jako u všech ostatních cílených léčebných strategií zaměřených na ovlivnění vzniku a progresu renálních cyst je navíc nutné časné zahájení terapie – především v presymptomatickém stadiu a tedy v dětství. Z tohoto hlediska se léčba somatostatinem jeví jako neperspektivní především pro svůj inhibiční efekt na uvolňování růstového hormonu.

Jiným pokusem o kauzální zásah do procesu cystogeneze je využití znalosti role epidermálního růstového faktoru (EGF) v buněčné hyperplázii. Bylo navrženo a na myším modelu ARPKD studováno použití inhibitoru EGFR tyrozinkinázové aktivity. Jako inhibitoru EGF receptorové tyrozinkinázy byly využíváno thiazolidindionů – skupiny léků používaných v terapii diabetu mellitu (242, 246, 247). U inhibitory intraperitoneálně léčených zvířat byly zaznamenány pomalejší růst a expanze cyst, delší udržování normálních renálních funkcí a delší celkové přežívání (246). Stejný výsledek přinesla studie na modelu ADPKD – Han:SPRD potkanech. Ani v jedné z obou studií nebyl pozorován žádný toxický efekt inhibitoru (248). Navíc vzhledem ke zvýšené expresi EGF receptoru v buňkách cyst existuje předpoklad, že pro terapii by mělo být dostatečné použití minimálních dávek blokátorů tyrozinkinázy, které by neměly vykazovat toxicitu pro ostatní buňky. Dosud nebyly publikovány zprávy o eventuálních zkouškách na lidech.

Podle nejnovějších zpráv byl popsán proapoptotický efekt triptolidu – látka rostlinného původu používaná v tradiční čínské medicíně pro své imunosupresivní účinky (způsobuje pravděpodobně supresi T-lymfocytů). Některé in vitro pokusy naznačují, že polycystin 2 může být mimo jiné vazebným proteinem pro triptolid a jejich vzájemná interakce může vést k uvolnění Ca<sup>++</sup>. To na myších modelech vede ke snížení buněčné proliferace a zpomalení progresu cystického postižení (249). Znalosti v této oblasti jsou však zatím minimální a bude nezbytný další výzkum.

U zvířat byl prokázán pozitivní vliv řady dalších intervencí na zpomalení progresu ADPKD zahrnujících dietní opatření - restrikce příjmu bílkovin, podávání sojové bílkoviny, lněné semínko, restrikce kofeinu, citrát sodný, a další (232-236). U sojové diety se ve srovnání se stravou bohatou na kasein předpokládá teoretická možnost ovlivnění choroby několika mechanismy – soja obsahuje izoflavon genistein, který blokuje tyrozinkinázu; navíc sojové proteiny mají vysoký poměr argininu/lyzinu, což vede ke zvýšené produkci NO; dochází i ke snížené produkci kyseliny arachidonové a růstového faktoru podobného inzulinu (IGF-1). Žádné z těchto opatření se ovšem neukázalo jako účinné u člověka. Testované retinoidy a vitamín D jak o látky ovlivňující buněčnou proliferaci, diferenciaci a apoptózu vykazovaly pozitivní vliv na cystogenezi na buněčných kulturách in vitro. Podávání bikarbonátu vycházející z popisované distální renální tubulární acidózy s nadprodukcí

amoniaku v kůře ledvin bylo bez efektu bez efektu na průběh choroby u myši. Stejně tak bylo bez efektu podávání alfa linolenové kyseliny – předpokládaný vliv na cysty snížením kyseliny arachidonové.

Snaha o snížení četnosti somatických mutací nepostížené alely vedla k pokusům ovlivnit jejich četnost prostřednictvím antioxidantů. U potkanů Han:SPRD byl průběh polycystózy urychlen podáváním butioninu, jehož podávání vede ke snížení glutationu. Naopak podávání antioxidantu probucolu mělo protektivní vliv. V experimentu s podáváním jiného antioxidantu – alfa tokoferolu – však jeho předpokládaný protektivní efekt prokázán nebyl. Také tyto výsledky jsou tedy nepřesvědčivé a nelze předjímat jejich efekt u člověka.

## 11 SHRnutí, CÍLE STUDIE

Je tedy možné konstatovat, že ve srovnání s jedinci postiženými mutací PKD2 mají pacienti s PKD1 mutací těžší průběh nemoci s časnější manifestací a vyšší prevalencí symptomů a komplikací – zejména vyšší prevalence hypertenze, infekcí močových cest, makrohematurie a mají zvýšené riziko progresu do renálního selhání (nastává průměrně o 20 let dříve) a kratší dobu přežití. V současnosti je doba přežití značně modifikována dobrou dostupností renal replacement therapy (RRT), což zlepšuje vyhlídky zejména pro pacienty s mutací v PKD1. Ale ačkoli PKD2 je klinicky mírnější než PKD1, má rovněž nepříznivý dopad na celkové životní vyhlídky.

Zatímco v současnosti je terapie pacientů s ADPKD zaměřena prakticky výhradně na léčbu komplikací (hypertenze, proteinurie, infekce močových cest, chronické selhání ledvin), lze předpokládat, že v budoucnosti se bude terapie ubírat spíše snahami o kauzální ovlivnění cystogeneze. První klinické studie zaměřené na kauzální léčbu v současnosti již probíhají. Ačkoli byl v posledních letech učiněn velký pokrok ve snahách o pochopení molekulárně-biologické podstaty ADPKD, přesný molekulární podklad pozorovaných klinických rozdílů mezi PKD1 a PKD2 stále není zcela objasněn. Vysvětlení pro tyto rozdíly může vést k budoucím efektivním léčebným a preventivním zásahům specifických pro každý genotyp.

Studie zabývající se korelacemi mezi genotypem a fenotypem u pacientů s ADPKD mají význam pro přesnější hodnocení frekvence komplikací pacientů s mutacemi PKD1 a PKD2 genu. To má význam jak pro samotný základní výzkum (zjištění odlišností průběhu onemocnění, pro které je zapotřebí najít molekulárně-biologické vysvětlení), tak zejména pro praktické poradenství pacientům s ADPKD. Protože z důvodu technických požadavků a ceny detekce obou mutací a vazebné analýzy u ADPKD není identifikace genotypu dosud u většiny pacientů standardně možná, má tento výzkum konkrétní dopady i pro pacienty – v rámci výzkumu zjištěný genotyp umožňuje zpřesnit prognózu onemocnění u daného jedince.

Všechny dosud provedené studie korelací mezi genotypem a fenotypem u ADPKD se však týkají výhradně dospělých pacientů. Řada prací se sice zabývá popisem symptomů ADPKD v dětském věku, pacienti však neodlišuje do skupin podle mutací v genu PKD1/PKD2. Dosud tedy nikdo nestudoval korelaci genotyp-fenotyp ADPKD u dětí - naše práce je první, která se zabývá dětskými pacienty.

Cíle studie zabývající se korelací genotypu a fenotypu u dětí s ADPKD lze na základě popisovaných tezí formulovat následovně:

- zjištění skutečné frekvence symptomů a komplikací u dětí s jasně diagnostikovanou PKD1/PKD2 mutací na v současné době celosvětově největším existujícím registru dětských pacientů s ADPKD - hlavní cíl studie, dosud nikdy neprovedeno,
- ověření předpokladu odlišností v cystogenezi u ADPKD podmíněném mutacemi v PKD1 a PKD2 genu studiem časných fází onemocnění (dosavadní znalosti odvozovány ze studií provedených na dospělých pacientech) - dosud neprovedeno

- ověření průběhu nemoci u pacientů s velmi časným nástupem ADPKD (VEO-ADPKD) - dosud popisovány jen kazistiky nebo malé soubory pacientů, navíc jen zcela ojediněle zkoumán vztah tohoto podtypu ADPKD k mutacím genu PKD1 a PKD2,
- nalezením odlišností v manifestaci onemocnění přispět k diskusi vedoucí k objasňování molekulárně-genetického podkladu rozdílné patogeneze obou podtypů ADPKD,
- zjištěním frekvence potenciálně léčebně ovlivnitelných komplikací (zejména proteinurie a hypertenze) poskytnout argumenty pro časnou diagnostiku a terapii dětí s ADPKD se záměrem zlepšit prognózu pacientů a oddálit nástup chronického renálního selhání v budoucnosti - data a studie podobného zaměření sice již realizovány, ale dosud bez vztahu k vazbě ADPKD na mutaci genech PKD1 a PKD2
- na základě předpokládaných odlišností v časnosti nástupu symptomů a komplikací mezi dětmi s ADPKD podmíněným mutacemi v genech PKD1 a PKD2 poskytnout podklady pro event. možnost rozdílné a maximálně racionální dispenzarizace pacientů se známým typem mutace v genu PKD1 nebo PKD2 - dosud pacienti podléhají stejné dispenzarizaci,
- do budoucna poskytnout argumentaci pro možnost zahájení cílené moderní léčby již v časném v dětském věku; v současnosti existuje předpoklad již prenatální formace cyst u ADPKD - pokud má tedy mít cílená terapie možnost zasáhnout do procesu cystogeneze, musí být zahájena velmi časně, optimálně již v kojeneckém věku - podklady dokumentující nejčasnější fáze cystogeneze u ADPKD ve vazbě na mutaci v genu PKD1 a PKD2 získané z této studie jsou cenné vzhledem k potenciálním nežádoucím účinkům cílené terapie vyplývající z v podstatě celoživotní expozice medikamentům, navíc s cílem podávání od nejnižších věkových skupin.

**12 LITERATURA**

1. Lespinasse J, Fourcade J, Schir F. Polycystic kidney diseases: molecular genetics and counselling. *Nephrol Ther* 2006;2(3):120-6.
2. Boucher C, Sandford R. Autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD, MIM 173900, PKD1 and PKD2 genes, protein products known as polycystin-1 and polycystin-2). *Eur J Hum Genet* 2004;12(5):347-54.
3. Ravine D, Walker RG, Gibson RN, et al. Phenotype and genotype heterogeneity in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Lancet* 1992;340:1330-33.
4. Soyibo AK, Barton EN. Report from the Caribbean renal registry, 2006. *West Indian Med J* 2007;56(4):355-63.
5. Gabow PA. Autosomal dominant polycystic kidney disease: more than a renal disease. *Am J Kidney Dis* 1990;16:403-13.
6. Peters DJM, Sandkuijl LA. Genetic heterogeneity of polycystic kidney disease in Europe. *Contrib Nephrol* 1992;97:128-39.
7. Turco AE, Clementi M, Rosetti S, et al. An Italian family with autosomal dominant polycystic kidney disease unlinked to either the PKD1 or PKD2 gene. *Am J Kidney Dis* 1996;28:759-61.
8. Ariza M, Alvarez V, Marin R, et al. A family with a milder form of adult dominant polycystic kidney disease not linked to the PKD1 (16p) or PKD2 (4q) genes. *J Med Genet* 1997;34:587-89.
9. Daoust MC, Reynolds DM, Bichet DG, et al. Evidence for a third genetic locus for autosomal dominant polycystic kidney disease. *Genomics* 1995;25:733-36.
10. Parfrey PS, Bear JC, Morgan J, et al. The diagnosis and prognosis of autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 1990;323:1085-90.
11. Hateboer N, v Dijk MA, Bogdanova N, et al. Comparison of phenotypes of polycystic kidney disease types 1 and 2. European PKD1-PKD2 Study Group. *Lancet* 1999;353(9147):103-7.
12. Harris PC, Bae KT, Rossetti S, et al. Cyst number but not the rate of cystic growth is associated with the mutated gene in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2006;17(11):3013-9.
13. Fick GM, Johnson AM, Strain JD, et al. Characteristics of very early onset autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1993 Jun;3(12):1863-70.
14. MacDermot KD, Sagar-Malik AK, Economides DL, et al. Prenatal diagnosis of autosomal dominant polycystic kidney disease (PKD1) presenting in utero and prognosis for very early onset disease. *J Med Genet* 1998 Jan;35(1):13-16.
15. Reeders ST, Breuning MH, Davies KE, et al. A highly polymorphic DNA marker linked to adult polycystic kidney disease on chromosome 16. *Nature* 1985;317:542-54.
16. Harris PC. Autosomal dominant polycystic kidney disease: clues to pathogenesis. *Hum Mol Genet* 1999;8(10):1861-6.
17. Consortium EPKD. The polycystic kidney disease 1 gene encodes a 14kb transcript and lies within a duplicated region on chromosome 16. *Cell* 1994;77:881-94.
18. Torra R, Badenas C, Darnell A, et al. Linkage, clinical features, and prognosis of autosomal dominant polycystic disease type 1 and 2. *J Am Soc Nephrol* 1996;7:2142-51.
19. Mochizuki T, Wu G, Hayashi T, et al. PKD2, a gene for polycystic kidney disease that encodes an integral membrane protein. *Science* 1996;272:1339-42.
20. Hayashi T, Mochizuki T, Reynolds DM, et al. Characterization of the exon structure of the polycystic kidney disease 2 gene (PKD2). *Genomics* 1997;44:131-36.
21. de Almeida S, de Almeida E, Peters D, et al. Autosomal dominant polycystic kidney disease: evidence for the existence of a third locus in a Portuguese family. *Hum Genet* 1995;96:83-88.
22. Merta M, Reiterová J, et al. Dědičná onemocnění ledvin. 1. vydání, Praha, Triton, 2004.
23. Hughes J, Ward CJ, Peral B, et al. The polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene encodes a novel protein with multiple cell recognition domains. *Nat Genet* 1995;10:151-60.
24. Consortium TIPKD. Polycystic kidney disease: the complete structure of the PKD1 gene and its protein. *Cell* 1995;81:289-98.
25. Sandford R, Sgotto B, Aparicio S, et al. Comparative analysis of the polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene reveals an integrated membrane glycoprotein with multiple evolutionary conserved domains. *Hum Mol Genet* 1997;6:1483-89.
26. Ibraghimov-Beskrovnaya O, Bukanov NO, Donohue LC, et al. Strong homophilic interactions of the Ig-like domains of polycystin-1, the protein product of an autosomal dominant polycystic kidney disease gene, PKD1. *Hum Mol Genet* 2000;9:1641-49.
27. Bycroft M, Bateman A, Clarke C, et al. The structure of a PKD domain from polycystin-1: implication for polycystic kidney disease. *EMBO J.* 1999;18:297-305.
28. Moy GW, Mendoza LM, Schulz JR, et al. The sea urchin sperm receptor for egg jelly is a modular protein with extensive homology to the human polycystic kidney disease protein, PKD1. *J Cell Biol* 1996;133(809-17).
29. Hughes J, Ward CJ, Aspinwall R, et al. Identification of a human homologue of the sea urchin receptor for egg jelly: a polycystic kidney disease-like protein. *Hum Mol Genet* 1999;8:543-49.
30. Scheffers MS, van der Bent P, Prins F, et al. Polycystin-1, the product of the polycystic kidney disease 1 gene, co-localizes with desmosomes in MDCK-cells. *Hum Mol Genet* 2000;9(2743-50).
31. Parnell SC, Magenheimer BS, Rankin CA, et al. The polycystic kidney disease-1 protein, polycystin-1, binds and activates heterotrimeric G-proteins in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;251:625-31.
32. Kim E, Arnould T, Sellin L, et al. Interaction between RGS7 and polycystin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:6371-76.

33. Bhunia AK, Piontek K, Boletta A, et al. PKD1 induces p21(waf1) and regulation of the cell cycle via direct activation of the JAK-STAT signalling pathway in a process requiring PKD2. *Cell* 2002;109:157-68.
34. Kim E, Arnould T, Sellin LK, et al. The polycystic kidney disease I gene product modulates Wnt signaling. *J Biol Chem* 1999;274:4947-53.
35. Huan Y, van Adelsberg J. Polycystin-1, the PKD1 gene product, is in a complex containing E-cadherin and the catenins. *J Clin Invest* 1999;104:1459-68.
36. Wilson PD, Geng L, Li X, et al. The PKD1 gene product, "polycystin-1", is a tyrosine-phosphorylated protein that colocalizes with alpha2beta1-integrin in focal clusters in adherent renal epithelia. *Lab Invest* 1999;79:1311-23.
37. Wilson PD. Polycystin: new aspects of structure, function, and regulation. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:834-45.
38. Arnould T, Kim E, Tsiokas L, et al. The polycystic kidney disease 1 gene product mediates protein kinase C alpha-dependent and c-Jun N-terminal kinase-dependent activation of the transcription factor AP-1. *J Biol Chem* 1998;273:6013-18.
39. Parnell SC, Magenheimer BS, Maser RL, et al. Polycystin-1 activation of c-Jun N-terminal kinase and AP-1 is mediated by heterotrimeric G proteins. *J Biol Chem* 2002;277:19566-72.
40. Lu W, Peissel B, Babakhanlou H, et al. Perinatal lethality with kidney and pancreas defects, in mice with a targeted pkd1 mutation. *Nat Genet* 1997;17:179-81.
41. Boulter C, Mulroy S, Webb S, et al. Cardiovascular, skeletal, and renal defects in mice with a targeted disruption of the Pkd1 gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:12174-79.
42. Lu W, Shen X, Pavlova A, et al. Comparison of Pkd1-targeted mutant reveals that loss of polycystin-1 causes cystogenesis and bone defects. *Hum Mol Genet* 2001;10:2385-96.
43. Nauli SM, Alenghat FJ, Luo Y, et al. Polycystins 1 and 2 mediate mechanosensation in the primary cilium of kidney cells. *Nat Genet* 2003;33:129-37.
44. Kim K, Drummond I, Ibraghimov-Beskrovnaya O, et al. Polycystin 1 is required for the structural integrity of blood vessels. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:1731-36.
45. Ibraghimov-Beskrovnaya O, Dackowski WR, Foggensteiner L, et al. Polycystin: in vitro synthesis, in vivo tissue expression, and subcellular localization identifies a large membrane-associated protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:6397-402.
46. Peters DJM, van de Wal A, Spruit L, et al. Cellular localization and tissue distribution of polycystin-1. *J Pathol* 1999;188:439-46.
47. Weston BS, Jeffery S, Heffrey I, et al. Polycystin expression during embryonic development of human kidney in adult tissues and ADPKD tissue. *Histochem J* 1997;29:847-56.
48. Griffin MD, Torres VE, Grande JP, et al. Vascular expression of polycystin. *J Am Soc Nephrol* 1997;8:616-26.
49. Yoder BK, Hou X, Guay-Wodford LM. The polycystic kidney disease proteins, polycystin-1, polycystin-2, polaris, and cystin, are co-localized in renal cilia. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:2508-16.
50. Nickel C, Benzing T, Sellin L, et al. The polycystin-1 C-terminal fragment triggers branching morphogenesis and migration of tubular kidney epithelial cells. *J Clin Invest* 2002;109:481-89.
51. Ward CJ, Turkley H, Ong ACM, et al. Polycystin, the polycystic kidney disease 1 protein, is expressed by epithelial cell in fetal, adult and polycystic kidney. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:1524-28.
52. Griffin MD, Torres VE, Grande JP, et al. Immunolocalization of polycystin in human tissues and cultured cells. *Proc Assoc Am Physicians* 1996;108:185-97.
53. Geng L, Segal Y, Pavlova A, et al. Distribution and developmentally regulated expression of murine polycystin. *Am J Physiol* 1997;272:F451-59.
54. Peters DJM, Spruit L, Klingel R, et al. Adult, fetal and polycystic kidney expression of polycystin, the polycystic kidney disease 1 gene product. *Lab Invest* 1996;75:221-30.
55. Pallson R, Sharma CP, Kim K, et al. Characterization and cell distribution of polycystin, the product of autosomal dominant polycystic kidney disease gene I. *Mol Med* 1996;2:702-11.
56. Geng L, Segal Y, Peissel Deng N, et al. Identification and localisation of polycystin, the PKD1 gene product. *J Clin Invest* 1996;98:2674-82.
57. van Adelsberg J, Chamberlain S, D'Agato V. Polycystin expression is temporally and spatially regulated during renal development. *Am J Physiol* 1997;272:F602-09.
58. Ong AC, Ward CJ, Butler RJ, et al. Coordinate expression of the autosomal dominant polycystic kidney disease proteins, polycystin-2 a polycystin-1, in normal and cystic tissue. *J Am Pathol* 1999;154:1721-29.
59. Tsiokas L, Arnould T, Zhu C, et al. Specific association of the gene product of PKD2 with the TRPC1 channel. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:3934-39.
60. Gonzalez-Perrett S, Kim K, Ibarra C, et al. Polycystin-2, the protein mutated in autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD), is a Ca<sup>2+</sup>-permeable nonselective cation channel. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;98:1182-87.
61. Hanaoka K, Qian F, Boletta A, et al. Co-assembly of polycystin-1 and -2 produces unique cation-permeable currents. *Nature* 2000;408:990-94.
62. Vassilev PM, Guo L, Chen XZ, et al. Polycystin-2 is a novel cation channel implicated in defective intracellular Ca<sup>2+</sup> homeostasis in polycystic kidney disease. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;282:341-50.
63. Koulen P, Cai Y, Geng L, et al. Polycystin-2 is an intracellular calcium release channel. *Nat Cell Biol* 2002;4:191-97.
64. Qian F, Germino FJ, Cai Y, et al. PKD1 interacts with PKD2 through a probable coiled-coil domain. *Nat Genet* 1997;16:179-83.
65. Tsiokas L, Kim E, Arnould T, et al. Homo- and heterodimeric interactions between the gene products of PKD1 and PKD2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:6965-70.

66. Ong AC, Harris PC. Molecular pathogenesis of ADPKD: the polycystin complex gets complex. *Kidney Int* 2005;67(4):1234-47.
67. Vandorpe DH, Wilhelm S, Jiang L, et al. Cation channel regulation by COOH-terminal cytoplasmic tail of polycystin-1: mutational and functional analysis. *Physiol Genomics* 2002;8:87-98.
68. Xu GM, Gonzalez-Perrett S, Essafi M, et al. Polycystin-1 activates and stabilizes the polycystin-2 channel. *J Biol Chem* 2003;278:1457-62.
69. Gallagher AR, Cedzich A, Gretz N, et al. The polycystic kidney disease protein PKD2 interacts with Hax-1, a protein associated with the actin cytoskeleton. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:4017-22.
70. Pennekamp P, Karcher C, Fischer A, et al. The ion channel polycystin-2 is required for left-right axis determination in mice. *Curr Biol* 2002;12:938-43.
71. Wu G. Current advances in molecular genetics of autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001;10(1):23-31.
72. Foggensteiner L, Bevan AP, Thomas R, et al. Cellular and subcellular distribution of polycystin-2, the protein product of the PKD2 gene. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:814-27.
73. Zhao HD, Xu CG, Mei CL, et al. Expression of PKD1 and PKD2 transcripts and proteins and its significance in different types of kidney tissues and kidney lines. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2005;34(10):646-9.
74. Torres VE. New insights into polycystic kidney disease and its treatment. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998;7:159-69.
75. Torra R, Badenas C, San Millan JL, et al. A loss-of-function model for cystogenesis in human autosomal dominant polycystic kidney disease type 2. *Am J Hum Genet* 1999;65(2):345-52.
76. Carone FA, Bacallao R, Kanwar YS. Pathogenesis of polycystic kidney disease: basement membrane and extracellular matrix. In Watson, M. L. and Torres, V. E. (eds), *Polycystic kidney disease*. Oxford University Press, Oxford, UK, pp. 111-124. 1996.
77. Wilson PD. Pathogenesis of polycystic kidney disease: altered cellular function. In Watson, M. L. and Torres, V. E. (eds), *Polycystic kidney disease*. Oxford University Press, Oxford, UK, pp. 125-163. 1996.
78. Pei Y. Molecular genetics of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Clin Invest Med* 2003;26(5):252-8.
79. Nadasdy T, Laszik Z, Lajoie G, et al. Proliferative activity of cyst epithelium in human renal cystic diseases. *J Am Soc Nephrol* 1995;5:1462-68.
80. Belibi FA, Reif G, Wallace DP, et al. Cyclic AMP promotes growth and secretion in human polycystic kidney epithelial cells. *Kidney Int* 2004;66:964-73.
81. Torres VE. Cyclic AMP, at the hub of the cystic cycle *Kidney Int* 2004;66:1283-85.
82. Marfella-Scivittaro C, Quinones A, Orellana SA. cAMP-dependent protein kinase and proliferation differ in normal and polycystic kidney epithelia. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002;282:C693-707.
83. Richards WG, Sweeney WE, Yoder BK, et al. Epidermal growth factor receptor activity mediates renal cyst formation in polycystic kidney disease. *J Clin Invest* 1998;101:935-39.
84. Wilson PD. Polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2004;350(151-64).
85. Du J, Wilson PD. Abnormal polyryzation of EGF receptors and autocrine stimulation of cyst epithelial growth in human ADPKD. *Am J Physiol* 1995;269:C487-95.
86. Orellana SA, Sweeney WE, Neff CD, et al. Epidermal growth factor receptor expression is abnormal in murine polycystic kidney. *Kidney Int* 1995;47:490-99.
87. Lee DC, Chan KW, Chan SY. Expression of transforming growth factor alpha and epidermal growth factor receptor in adult polycystic kidney disease. *J Urol* 1998;159:291-96.
88. Ali SM, Wong VY, Kikly K, et al. Apoptosis in polycystic kidney disease: involvement of caspases. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000;278:R763-69.
89. Ecdar T, Melnikov VY, Stanley M, et al. Caspases, Bcl-2 proteins and apoptosis in autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 2002;61:1220-30.
90. Woo D. Apoptosis and loss of renal tissue in polycystic kidney diseases. *N Engl J Med* 1995;333(18-25).
91. Wilson PD. Polycystic kidney disease: new understanding in the pathogenesis. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36(10):1868-73.
92. Smyth BJ, Snyder RW, Balkovetz DF, et al. Recent advances in the cell biology of polycystic kidney disease. *Int Rev Cytol* 2003;231:51-89.
93. Yamaguchi T, Wallace DP, Magenheimer BS, et al. Calcium restriction allows cAMP activation of B-Raf/ERK pathway, switching cells to a cAMP-dependent growth-stimulated phenotype. *J Biol Chem* 2004;279:40419-30.
94. Yamaguchi T, Pelling JC, Ramaswamy NT, et al. cAMP stimulates the in vitro proliferation of renal cyst epithelial cells by activating the extracellular signal-regulated kinase pathway. *Kidney Int* 2005;57:1460-71.
95. Ward CJ, Yuan D, Masyuk TV, et al. Cellular and subcellular localization of the ARPKD protein; fibrocystin is expressed on primary cilia. *Hum Mol Genet* 2003;12:2703-10.
96. Otto EA, Schermer B, Obara T, et al. Mutations in INVS encoding inversin cause nephronophthisis type 2, linking renal cystic disease to the function of primary cilia and left-right axis determination. *Nat Genet* 2003;34:413-20.
97. Romio L, Wright V, Price K, et al. OFD1, the gene mutated in oral-facial-digital syndrome type 1, is expressed in the metanephros and in human embryonic renal mesenchymal cells. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:680-89.
98. Russo RJ, Husson H, Joly D, et al. Impaired formation of desmosomal junctions in ADPKD epithelia. *Histochem Cell Biol* 2005;124:487-97.
99. Candiano G, Gusmano R, Altieri P, et al. Extracellular matrix formation by epithelial cells from human polycystic kidney cysts in culture. *Vichows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1992;63:1-9.
100. Rankin CA, Suzuki K, Itoh Y, et al. Matrix metalloproteinases and TIMPS in cultured C57BL/6J-cpk kidney tubules. *Kidney Int* 1996;50:835-44.

101. Rankin CA, Itoh Y, Tian C, et al. Matrix metalloproteinase-2 in a murine model of infantile-type polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:210-17.
102. Schaefer L, Han X, Gretz N, et al. Tubular gelatinase A (MMP-2) and its tissue inhibitors in polycystic kidney disease in the Han:SPRD rat. *Kidney Int* 1996;49:75-81.
103. Nakamura T, Ushiyama C, Suzuki S, et al. Elevation of serum levels of metalloproteinase-1, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and type IV collagen, and plasma levels of metalloproteinase-9 in polycystic kidney disease. *Am J Nephrol* 2000;20:32-36.
104. Obermuller N, Morente N, Krazlin B, et al. A possible role for metalloproteinases in renal cyst development. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001;280:F540-50.
105. Daikha-Dahmane F, Dommergues M, Narcy F, et al. Distribution and ontogenesis of tenascin in normal and cystic human fetal kidneys. *Lab Invest* 1995;73:547-57.
106. Ojeda JL. Abnormal tenascin expression in murine autosomal recessive polycystic kidneys. *Nephron* 1999;82:261-69.
107. Daikha-Dahmane F, Narcy F, Dommergues M, et al. Distribution of alpha-integrin subunits in fetal polycystic kidney diseases. *Pediatr Nephrol* 1997;11:267-73.
108. Cowley BD, Jr., Ricardo SD, Nagao S, et al. Increased renal expression of monocyte chemoattractant protein-1 and osteopontin in ADPKD in rats. *Kidney Int* 2001;60(2087-96).
109. Maser RL, Vassmer D, Magenheimer BS, et al. Oxidant stress and reduced antioxidant enzyme protection in polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:991-99.
110. Ogborn MR, Crocker JF, McCarthy SC. RU38486 prolongs survival in murine congenital polycystic kidney disease. *J Steroid Biochem* 1987;28:783-84.
111. Desmukh GD, Radin NS, Gattone VH II, et al. Abnormalities of glycosphingolipid, sulfatide, and ceramide in the polycystic (cpk/cpk) mouse. *J Lipid Res* 1994;35:1611-18.
112. Crocker JF, Blecher SR, Givner ML, et al. Polycystic kidney and liver disease and corticosterone changes in the cpk mouse. *Kidney Int* 1987;31:1088-91.
113. Bello-Reuss E, Holubec K, Rajamaran S. Angiogenesis in autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 2001;60:37-45.
114. Davidow CJ, Maser RL, Rome LA, et al. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mediates transepithelial fluid secretion by human autosomal dominant polycystic kidney disease epithelium in vitro. *Kidney Int* 1996;50:208-18.
115. Grantham JJ, Ye M. The secretion of fluid by renal cysts from patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 1993;329:310-13.
116. O'Sullivan DA, Torres VE, Gabow PA, et al. Cystic fibrosis and the phenotypic expression of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 1998;32:976-83.
117. Persu A, Devuyt O, Lannoy N, et al. CF gene and cystic fibrosis transmembrane conductance regulator expression in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:2285-96.
118. Wilson PD, Sherwood AC, Palla K, et al. Reversed polarity of Na(+)-K(+)-ATPase: mislocation to apical plasma membranes in polycystic kidney disease epithelia. *Am J Physiol* 1991;260:F420-30.
119. Avner ED, Sweeney WEJ, Nelson WJ. Abnormal sodium pump distribution during renal tubulogenesis in congenital murine polycystic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:7447-51.
120. Rizk D, Chapman A. Treatment of autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD): the new horizon for children with ADPKD. *Pediatr Nephrol* 2008.
121. Fick-Brosnahan GM, Tran ZV, Johnson AM, et al. Progression of autosomal-dominant polycystic kidney disease in children. *Kidney Int* 2001;59:1654-62.
122. Fick-Brosnahan G, Johnson AM, Strain JD, et al. Renal asymmetry in children with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 1999;34:639-45.
123. Gabow PA, Kaehny WD, Johnson AM, et al. The clinical utility of renal concentrating capacity in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 1989;35:675-80.
124. Wong H, Vivian L, Weiler G, et al. Patients with autosomal dominant polycystic kidney disease hyperfiltrate early in their disease. *Am J Kidney Dis* 2004;43(4):624-8.
125. Chapman AB, Johnson AM, Gabow PA, et al. Overt proteinuria and microalbuminuria in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1994;5:1349-54.
126. Sharp C, Johnson A, Gabow P. Factors relating to urinary protein excretion in children with autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:1908-14.
127. Gabow PA, Duley I, Johnson AM. Clinical profiles of gross hematuria in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 1992;20:140-43.
128. Torres VE, Wilson DM, Hattery RR, et al. Renal stone disease in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 1993;1:513-19.
129. Seeman T, Dusek J, Vondrichova H, et al. Ambulatory blood pressure correlates with renal volume and number of renal cysts in children with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Blood Press Monit* 2003;8(3):107-10.
130. Seeman T, Sikut M, Konrad M, et al. Blood pressure and renal function in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 1997;11(5):592-6.
131. Li KW, Macnicol AM, Watson ML. Ambulatory blood pressure in hypertensive patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:2075-80.
132. Ramunni A, Saracino A, Esposito T, et al. Renal vascular resistance and renin-angiotensin system in the pathogenesis of early hypertension in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Hypertens Res* 2004;27:221-25.



133. Chapman AB, Johnson AM, Gabow PA, et al. The renin-angiotensin system and polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 1990;323:1091-96.
134. Geberth S, Stier E, Zeier M, et al. More adverse renal prognosis of autosomal dominant polycystic kidney disease in families with primary hypertension. *J Am Soc Nephrol* 1995;6:1643-48.
135. Schrier RW, McFann KK, Johnson AM. Epidemiological study of kidney survival in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 2003;63:678-85.
136. Brazy PC, Stead WW, Fitzwilliam JF. Progression of renal insufficiency: role of blood pressure. *Kidney Int* 1989;35:670-74.
137. Gonzalo A, Gallego A, Rivera M, et al. Influence of hypertension on early renal insufficiency in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephron* 1996;72:225-30.
138. Ivy DD, Schaffer EM, Johnson AM, et al. Cardiovascular abnormalities in children with autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1995;5:2032-36.
139. Tee JB, Acott PD, McLellan DH, et al. Phenotypic heterogeneity in pediatric autosomal dominant polycystic kidney disease at first presentation: a single-center, 20-year review. *Am J Kidney Dis* 2004;43(2):296-303.
140. Lumiaho A, Ikaheimo R, Miettinen R, et al. Mitral valve prolapse and mitral regurgitation are common in patients with polycystic kidney disease type 1. *Am J Kidney Dis* 2001;38:1208-16.
141. de Chadarevian JP, Kaplan BS. Endocardial fibroelastosis, myocardial scarring and polycystic kidneys. *Int J Pediatr Nephrol* 1981;2:273-75.
142. Bardaji A, Matinez Veja A, Gutierrez C, et al. Left ventricular mass and diastolic function in normotensive young adults with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 1998;32:970-75.
143. Chapman AB, Rubinstein D, Hughes RL, et al. Intracranial aneurysms in autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 1992;327:916-20.
144. Hughes PD, Becker G. Screening for intracranial aneurysms in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrology* 2003;8:163-70.
145. Ha SK, Park CH, Kna JS, et al. External manifestation of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Yonsei Med J* 1997;38:111-16.
146. Bae KT, Zhu F, Chapman AB, et al. Magnetic resonance imaging evaluation of hepatic cysts in early autosomal-dominant polycystic kidney disease: The consortium for radiologic imaging studies of polycystic kidney disease cohort. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1:64-69.
147. Gabow PA, Johnson AM, Kaehny WD, et al. Risk factors for the development of hepatic cysts in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Hepatology* 1990;11:1033-37.
148. Lipschitz B, Berdon WE, Defelice AR, et al. Association of congenital hepatic fibrosis with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Pediatr Radiol* 1993;23:131-33.
149. Belet U, Danaci M, Sarikaya S, et al. Prevalence of epididymal, seminal vesicle, prostate and testicular cysts in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Urology* 2002;60:138-41.
150. Morris-Stiff G, Coles G, Moore G, et al. Abdominal wall hernia in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Br J Surg* 1997;84:615-17.
151. Gabow PA. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 1993;329:332-42.
152. Lederman ED, McCoy G, Conti DJ, et al. Diverticulitis and polycystic kidney disease. *Am Surg* 2000;66:200-03.
153. Batista Peres LA, Leonel Ferreira JR, Alvarez Delfino VD. Polycystic horseshoe kidney. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:652-53.
154. Sirvent AE, Enriques R, Ardoy F, et al. Autosomal dominant polycystic kidney disease with congenital absence of contralateral kidney. *Int Urol Nephrol* 2006;38:773-74.
155. Seeman T, Dusek J, Vondrak K, et al. Renal concentrating capacity is linked to blood pressure in children with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Physiol Res* 2004;53(6):629-34.
156. Kääriäinen H, Koskimies O, Norio R. Dominant and recessive polycystic kidney disease in children: evaluation of clinical features and laboratory data. *Pediatr Nephrol* 1988;2:296-302.
157. Coto E, Sanz de Castro S, Aguado S, et al. DNA microsatellite analysis of families with autosomal dominant polycystic kidney disease types 1 and 2: evaluation of clinical heterogeneity between both forms of disease. *J Med Genet* 1995;32:442-45.
158. Gabow PA, Johnson AM, Kaehny WD, et al. Factors affecting the progression of renal disease in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 1992;41:1311-19.
159. Ravine D, Gibson RN, Walker RG, et al. Evaluation of ultrasonographic diagnostic criteria for autosomal dominant polycystic kidney disease 1. *Lancet* 1994;343:824-27.
160. Demetriou K, Tziakouri C, Anninou K, et al. Autosomal dominant polycystic kidney disease-type 2. Ultrasound, genetic and clinical correlations. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:205-11.
161. Gabow P, Kimberling WJ, Strain JD, et al. Utility of ultrasonography in the diagnosis of autosomal dominant polycystic kidney disease in children. *J Am Soc Nephrol* 1997;8:105-10.
162. Brun M, Maugey-Laulom B, Eurin D, et al. Prenatal sonographic patterns in autosomal dominant polycystic kidney disease: a multicenter study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004;24:55-61.
163. Binczak-Kuleta A, Rozanski J, Domanski L, et al. DNA microsatellite analysis in families with autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD): the first Polish study. *J Appl Genet* 2006;47(4):383-9.
164. Magistroni R, He N, Wang K, et al. Genotype-renal function correlation in type 2 autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:1164-74.
165. Veldhuisen B, Saris JJ, de Haij S, et al. A spectrum of mutations in the second gene for autosomal dominant polycystic kidney disease (PKD2). *Am J Hum Genet* 1997;61:547-55.

166. Pei Y, He N, Wang K, et al. A spectrum of mutations in the polycystic kidney disease-2 (PKD2) gene from eight Canadian kindreds. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:1853-60.
167. Peral B, Gamble V, San Millan JL, et al. Splicing mutations of the polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene induced by intronic deletion. *Hum Mol Genet* 1995;4:569-74.
168. Thomas R, McConnell R, Whittacker J, et al. Identification of mutations in the repeated part of the autosomal dominant polycystic kidney disease type I gene, PKD1, by long-range PCR. *Am J Hum Genet* 1999;65:39-49.
169. Chauveau D, Rossetti S, Strmecki L, et al. Mutation detection at PKD1 by PTT and direct sequencing (abstract A1896). *J Am Soc Nephrol* 1998;9:372A.
170. Ariyurek Y, Lantinga-van Leeuwen I, Spruit L, et al. Large deletions in the polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene. *Hum Mutat* 2004;23(1):99.
171. Rossetti S, Strmecki L, Gamble V, et al. Mutation analysis of the entire PKD1 gene: genetic and diagnostic implications. *Am J Hum Genet* 2001;68:46-63.
172. Rossetti S, Chauveau D, Walker D, et al. A complete mutation screen of the ADPKD genes by DHPLC. *Kidney Int* 2002;61:1588-99.
173. Harris PC, Torres VE. Autosomal dominant polycystic kidney disease. Edited by GeneClinics: Clinical Genetic Information Resource [database online]. Copyright, University of Washington, Seattle. Available at <http://www.geneclinics.org>. 2002.
174. Chaumoitre K, Brun M, Cassart M, et al. Differential diagnosis of fetal hyperechogenic cystic kidneys unrelated to renal tract anomalies: a multicenter study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006;28:911-17.
175. Boyer O, Gagnadoux MF, Guest G, et al. Prognosis of autosomal dominant polycystic kidney disease diagnosed in utero or at birth. *Pediatr Nephrol* 2007;22(3):380-8.
176. Nicolau C, Torra R, Badenas C, et al. Sonographic pattern of recessive polycystic kidney disease in young adults. Differences from the dominant form. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:1373-78.
177. Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, et al. *Pediatric nephrology*. 5th edition, Philadelphia, LW&W, 2004.
178. Abdollah Shamshirsaz A, Reza Bekheirnia M, Kamgar M, et al. Autosomal-dominant polycystic kidney disease in infancy and childhood: progression and outcome. *Kidney Int* 2005;68(5):2218-24.
179. Carr MC, Benacerraf BR, Estroff JA, et al. Prenatally diagnosed bilateral hyperechoic kidneys with normal amniotic fluid; postnatal outcome. *J Urol* 1995;153:442-44.
180. Muller F, Dreux S, Audibert F, et al. Fetal serum b2 microglobulin and cystatin C in the prediction of postnatal renal function in bilateral hypoplasia and hyperechogenic enlarged kidneys. *Prenat Diagn* 2004;24:327-32.
181. Fick-Brosnahan GM, Belz MM, McFann KK, et al. Relationship between renal volume growth and renal function in autosomal dominant polycystic kidney disease: a longitudinal study. *Am J Kidney Dis* 2002;39(6):1127-34.
182. King BF, Torres VE, Brummer ME, et al. Magnetic resonance measurements of renal blood flow as a marker of disease severity in autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 2003;64:2214-21.
183. Grantham JJ, Torres VE, Chapman AB, et al. Volume progression in polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2006;354:2122-30.
184. Johnson AM, Gabow PA. Identification of patients with autosomal dominant polycystic kidney disease at highest risk for end stage renal disease *J Am Soc Nephrol* 1997;8:1560-67.
185. Choukroun G, Itakura Y, Albouze G, et al. Factors influencing progression of renal failure in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1996;6:1634-42.
186. Stewart JH. End-stage renal failure appears earlier in men than in women with polycystic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 1994;24:181-83.
187. Fick GM, Johnson AM, Hammond WS, et al. Causes of death in autosomal dominant polycystic kidney disease *J Am Soc Nephrol* 1995;5:2048-56.
188. Rossetti S, Chauveau D, Kubly V, et al. Association of mutation position in polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene and development of a vascular phenotype. *Lancet* 2003;361:2196-201.
189. Rossetti S, Burton S, Strmecki L, et al. The position of the polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene mutation correlates with the severity of renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:1230-37.
190. Brook-Carter PT, Peral B, Hughes J, et al. Deletion of the TSC2 and PKD1 genes associated with severe infantile polycystic kidney disease: a contiguous gene syndrome. *Nat Genet* 1994;8:328-32.
191. Sampson JR, Maheshwar MM, Aspinwall R, et al. Renal cystic disease in tuberous sclerosis: the role of the polycystic kidney disease 1 gene. *Am J Hum Genet* 1997;61:843-51.
192. Shillingford JM, Murcia NS, Larson CH, et al. The mTOR pathway is regulated by polycystin-1 and its inhibition reverses renal cystogenesis in polycystic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:5466-71.
193. Mostov KE. mTOR is out of control in polycystic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:5247-48.
194. Hateboer N, Veldhuisen B, Peters D, et al. Location of mutations within the PKD2 gene influences clinical outcome. *Kidney Int* 2000;57(4):1444-51.
195. Wu G, D'Agati V, Cai Y, et al. Somatic inactivation of Pkd2 results in polycystic kidney disease. *Cell* 1998;93:177-88.
196. Ong ACM, Harris PC. Molecular basis of renal cyst formation - one hit or two? *Lancet* 1997;349:1039-40.
197. Sutters M, Germino GG. Autosomal dominant polycystic kidney disease: molecular genetics and pathophysiology. *J Lab Clin Med* 2003;141:91-101.
198. Koptides M, Constantinides R, Kyriakides G, et al. Loss of heterozygosity in polycystic kidney disease with a missense mutation in the repeated region of PKD1. *Hum Genet* 1998;103:709-17.
199. Reeders ST. Multilocus polycystic disease. *Nat Genet* 1992;1:235-37.
200. Qian FJ, Watick TJ, Onuchic LF, et al. The molecular basis of focal cyst formation in human autosomal dominant polycystic kidney disease. *Cell* 1996;87:979-87.

201. Brasier JL, Henske EP. Loss of the polycystic kidney disease (PKD1) region of chromosome 16p13 in renal cysts supports a loss-of-function model for cyst pathogenesis. *J Clin Invest* 1997;99:194-99.
202. Pei Y, Watnick T, He N, et al. Somatic PKD2 mutations in individual kidney and liver cysts support a "two-hit" model of cystogenesis in type 2 autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1999;10(7):1524-9.
203. Koptides M, Hadjimichael C, Koupepidou P, et al. Germinal and somatic mutations in the PKD2 gene of renal cysts in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Hum Mol Genet* 1999;8:509-13.
204. Wu G, Somlo S. Molecular genetics and mechanism of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Mol Genet Metab* 2000;69(1):1-15.
205. Cook DL, Gerber AN, Tapscott SJ. Modeling stochastic gene expression: implications for haploinsufficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:15641-46.
206. Koptides M, Mean R, Demetriou K, et al. Genetic evidence for a trans-heterozygous model for cystogenesis in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Hum Mol Genet* 2000;9:447-52.
207. Watnick T, He N, Wang K, et al. Mutations of PKD1 in ADPKD2 cysts suggest a pathogenic effect of trans-heterozygous mutations. *Nat Genet* 2000;25:143-44.
208. Wu G, Tian X, Nishimura S, et al. Trans-heterozygous Pkd1 and Pkd2 mutations modify expression of polycystic kidney disease. *Hum Mol Genet* 2002;11(16):1845-54.
209. Houlston RS, Tomlinson IP. Modifier genes in humans: strategies for identification. *Eur J Hum Genet* 1998;6:80-88.
210. Lantinga-van Leeuwen IS, Leonhard WN, Dauwerse H, et al. Common regulatory elements in the polycystic kidney disease 1 and 2 promoter regions. *Eur J Hum Genet* 2005;13(5):649-59.
211. Persu A, Duyme M, Pirson Y, et al. Comparison between siblings and twins supports a role for modifier genes in ADPKD. *Kidney Int* 2004;66:2132-36.
212. Fain P, McFann KK, Taylor M, et al. Modifier genes play a significant role in the phenotypic expression of PKD1. *Kidney Int* 2005;67:1256-67.
213. Chin SY, Wang CT, Majid DS, et al. Renoprotective effects of nitric oxide in angiotensin II-induced hypertension in the rat. *Am J Physiol* 1998;274:F876-82.
214. Yoshida I, Bengal R, Torres VE. Gender-dependent effect of L-NAME on polycystic kidney disease in Han:SPRD rats. *Am J Kidney Dis* 2000;35:930-36.
215. Persu A, Davila S, Stoenoiu MS, et al. Protective effect of the intron 4 polymorphism of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD). *J Am Soc Nephrol* 2000;11:930-36.
216. Van Dijk MA, Breuning MH, Chang PC. The ACE insertion/ deletion polymorphism has no influence on progression of renal function loss in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:836-39.
217. Perez-Oller L, Torra R, Badenas C, et al. Influence of the ACE gene polymorphism in the progression of renal failure in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 1999;34:273-78.
218. Saggari-Malik AK, Afzal AR, Swissman JS, et al. Lack of association of ACE/ angiotensinogen genotype with renal function in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Genet Test* 2000;4:299-303.
219. Sandhu S, Silbiger SR, Lei J, et al. Effects of sex hormones on fluid and solute transport in Madin-Darby canine kidney cells. *Kidney Int* 1997;51:1535-39.
220. Zeier M, Pohlmeier G, Deeb F, et al. Progression of renal failure in the Han:SPRD polycystic rat. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:1734-39.
221. Woo DD, Nguyen DK, Khatibi N, et al. Genetic identification of two major modifier loci of polycystic kidney disease progression in pcy mice. *J Clin Invest* 1997;100:1934-40.
222. Kuida S, Beier DR. Genetic localization of interacting modifiers affecting severity in a murine model of polycystic kidney disease. *Genome Res* 2000;10:49-54.
223. Guay-Wodford LM, Wright CJ, Walz G, et al. Quantitative trait loci modulate renal cystic disease severity in the mouse bpk model. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:1253-60.
224. Martin GM, Ogburn CE, Colgin LM, et al. Somatic mutations are frequent and increase with age in human kidney epithelial cells. *Hum Mol Genet* 1996;5:215-21.
225. Borgstahl GE, Parge HE, Hickey MJ, et al. Human mitochondrial manganese superoxide dismutase polymorphic variant Ile58Thr reduces activity by destabilizing the tetrameric interface. *Biochemistry* 1996;35:4287-97.
226. Pei Y, Paterson AD, Wang KR, et al. Bilineal disease and transheterozygotes in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Hum Genet* 2001;68:355-63.
227. Zerres K, Rudnik-Schöneborn S, Deget F, et al. Childhood onset autosomal dominant polycystic kidney disease in sibs: clinical picture and recurrence risk. *J Med Genet* 1993;30:583-88.
228. Bear JC, Parfrey PS, Morgan JM, et al. Autosomal dominant polycystic kidney disease: new information for genetic counselling. *Am J Med Genet* 1992;43:548-53.
229. Florijn KW, Noteboom WMP, Van Saase JLCM, et al. A century of mortality in five large families with polycystic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 1995;25:370-74.
230. Werder AA, Amos MA, Nielsen AH, et al. Comparative effects of germfree and ambient environments on the development of cystic kidney disease in CFW wd mice. *J Lab Clin Med* 1984;103:399-407.
231. Gardner KD, Reed WP, Evan AP, et al. Endotoxin provocation of experimental renal cystic disease. *Kidney Int* 1987;32:329-34.
232. Tanner GA, Tanner JA. Citrate therapy for polycystic kidney disease in rats. *Kidney Int* 2000;58:1859-69.
233. Tanner GA, Vijayalakshmi K, Tanner JA. Effects of potassium citrate/ citric acid intake in a mouse model of polycystic kidney disease. *Neprion* 2000;84:270-73.

234. Torres VE, Cowley BD, Jr., Branden MG, et al. Long-term ammonium chloride or sodium bicarbonate treatment in two models of polycystic kidney disease. *Exp Nephrol* 2001;9:171-80.
235. Ogborn MR, Sareen S. Amelioration of polycystic kidney disease by modification of dietary protein intake in the rat. *J Am Soc Nephrol* 1995;6:1649-54.
236. Edmunds JW, Jayapalan S, DiMarco NM, et al. Creatinine supplementation increases renal disease progression in Han:SPRD-cy rats. *Am J Kidney Dis* 2001;37:73-78.
237. Ecker T, Edelstein CL, Fick-Brosnahan GM, et al. Diuretics versus angiotensin-converting enzyme inhibitors in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Nephrol* 2001;21:98-103.
238. Dunn MD, Clayman RV. Laparoscopic management of renal cystic disease. *World J Urol* 2000;18:272-77.
239. Tao Y, Kim J, Schrier RW, et al. Rapamycin markedly slows disease progression in a rat model of polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:46-51.
240. Wahl PR, Serra AL, Le Hir M, et al. Inhibition of mTOR with sirolimus slows disease progression in Han:SPRD rats with autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD). *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:598-604.
241. Torres VE. Vasopressin antagonists in polycystic kidney disease. *Kidney Int* 2005;68(2405-18).
242. Gattone VH, Wang X, Harris PC, et al. Inhibition of renal cystic disease development and progression by a vasopressin V2 receptor antagonist. *Nat Med* 2003;9:1323-26.
243. Wang X, Gattone V, Harris PC, et al. Effectiveness of vasopressin V2 receptor antagonists OPC-31260 and OPC-41061 on polycystic kidney disease development in the PKC rat. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:846-51.
244. Chapman AB, Torres VE, Grantham JJ, et al. A phase IIB pilot study of the safety and efficacy of tolvaptan, a vasopressin V2 receptor antagonist (V2RA), in patients with ADPKD. ASN 38th Annual Renal Week Meeting 2006.
245. Ruggenti P, Remuzzi A, Onodi P, et al. Safety and efficacy of long-acting somatostatin treatment in autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 2005;68:206-16.
246. Sweeney WE, Chen Y, Nakanishi K, et al. Treatment of polycystic kidney disease with a novel tyrosine kinase inhibitor. *Kidney Int* 2000;57:33-40.
247. Muto S, Aiba A, Saito Y, et al. Pioglitazone improves the phenotype and molecular defects of a targeted Pkd1 mutant. *Hum Mol Genet* 2002;11:1731-42.
248. Torres VE, Sweeney WE, Wang X, et al. EGF receptor tyrosine kinase inhibition attenuates the development of PKD in Han:SPRD rats. *Kidney Int* 2003;64:1573-79.
249. Leuenroth SJ, Okuhara D, Shotwell JD, et al. Triptolide is a traditional Chinese medicine-derived inhibitor of polycystic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:4389-94.

## B STUDIE KORELACE GENOTYPU A FENOTYPU U DĚTÍ S ADPKD

### 1 ÚVOD, FORMULACE ZADÁNÍ STUDIE

Vstupní kritéria pro zařazení pacientů do studie "Korelace genotypu a fenotypu u dětí s ADPKD" zahrnují všechny pacienty s jistou diagnózou ADPKD a jednoznačně diagnostikovaným typem ADPKD (mutace v PKD1/PKD2 genu) - znalost genotypu byla tedy jediná podmínka zařazení do studie. Z tohoto hlediska byli posuzováni všichni pacienti zařazení do registru pacientů s ADPKD vedeném na nefrologickém pracovišti Pediatrické kliniky FNM. Tato databáze byla založena v roce 1992 (prof. Janda - FNM, prof. Schärer - Heidelberg, SRN) a registruje pacienty z celé ČR. V době studie zahrnovala data 260 pacientů, dle dostupných informací se jedná o největší soubor dětských pacientů s ADPKD na světě. Z 260 pacientů 124 nebylo molekulárně biologicky vyšetřeno, u 76 pacientů nebyl výsledek genetického vyšetření jednoznačný (neinformativní rodiny pro vazebnou DNA analýzu). Všech zbývajících 60 dětí se známou formou ADPKD (gen PKD1/PKD2) bylo do studie zařazeno - 50 PKD1 a 10 PKD2 pacientů. Molekulárně genetické vyšetření bylo založeno na nepřímé DNA diagnostice (vazebná analýza), která byla provedena u všech 60 pacientů. Zároveň byla u 6 PKD2 pacientů provedena i přímá DNA diagnostika, z nichž u 5 byla nalezena kauzální mutace.

Do studie byli pacienti zařazováni bez ohledu na věk a laboratorní nálezy. Pacienti diagnostikovaní na základě nepřímé diagnostiky (všech 50 PKD1 a 5 PKD2 pacientů) museli splnit sonografické kritérium alespoň 2 renálních cyst (pro splnění kritérií pro diagnózu ADPKD), zatímco pacienti s přímo diagnostikovanou PKD2 (nález kauzální mutace) byli zařazeni bez ohledu na počet cyst.

U všech pacientů byly hodnoceny následující parametry v okamžiku zařazení do registru pacientů s ADPKD na dětském nefrologickém pracovišti FNM:

- antropologické údaje obou skupin dětí (věk, výška, hmotnost),
- důvody vedoucí ke stanovení diagnózy - symptomy onemocnění/ pouze rodinná anamnéza ADPKD, prenatální diagnostika,
- ultrazvukové nálezy (velikost ledvin, počet cyst, velikost největší cysty v mm, bilaterální cystické postižení ledvin), jaterní, pankreatické cysty,
- biochemické nálezy - sérový kreatinin, vypočítaná glomerulární filtrace (GFR)\*,
- močové nálezy - hematurie, proteinurie - dipstick, proteinurie - kvantitativně (ze sběru moči)\*,
- krevní tlak - příležitostný TK, 24hod. ambulantní monitorování krevního tlaku (ABPM)\*.

\* parametry byly stanovovány pouze u pacientů, u kterých to bylo technicky možné:

- GFR jen u pacientů starších 2 let,
- kvantitativní proteinurie jen u pacientů, u kterých bylo možné provedení 24 hod. sběru moči,
- ABPM jen u pacientů s tělesnou výškou  $\geq 120$  cm.

**2 STUDIE KORELACE GENOTYPU A FENOTYPU U DĚTÍ S ADPKD**

**Citace: Fencl F, Janda J, Bláhová K, Hříbal Z, Štekrová J, Puchmajerová A, Seeman T: Genotype-phenotype correlation in children with autosomal dominant polycystic kidney disease. Pediatr Nephrol - přijato do tisku**

**GENOTYPE-PHENOTYPE CORRELATION IN CHILDREN WITH AUTOSOMAL DOMINANT POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE**

Fencl Filip, Janda Jan, Bláhová Květa, Hříbal Zdeněk\*, Štekrová Jitka\*\*, Puchmajerová Alena\*\*\*, Seeman Tomáš

Department of Paediatrics, Charles University in Prague, 2<sup>nd</sup> Faculty of Medicine, University Hospital Motol, V Úvalu 84, 150 06 Prague 5, Czech Republic

\*Department of Imaging Methods, Charles University in Prague, 2<sup>nd</sup> Faculty of Medicine, University Hospital Motol, V Úvalu 84, 150 06 Prague 5, Czech Republic

\*\*Institute of Biology and Department of Medical Genetics, Charles University in Prague, 1<sup>st</sup> Faculty of Medicine, Albertov 4, 128 00 Prague 2, Czech Republic

\*\*\*Institute of Biology and Medical Genetics, Charles University in Prague, 2<sup>nd</sup> Faculty of Medicine, V Úvalu 84, 150 06 Prague 5, Czech Republic

Corresponding author:

Filip Fencl, M.D.

Department of Paediatrics, Charles University in Prague, 2<sup>nd</sup> Faculty of Medicine, University Hospital Motol, V Úvalu 84, 150 06 Prague 5, Czech Republic

Tel: +420 224 432 001, fax: +420 224 432 020, e-mail: filipfencl@seznam.cz

**Abstract**

Adult patients with autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) and PKD1 mutations have a more severe disease than patients with PKD2 mutations. The aim of this study was to compare phenotypes between children with mutations in PKD1/PKD2 genes.

50 PKD1 and 10 PKD2 children were investigated. Their mean age was similar ( $8.6\pm 5.4$  and  $8.9\pm 5.6$  yrs). Renal ultrasound, office blood pressure (BP), ambulatory BP, creatinine clearance and proteinuria were analysed.

PKD1 children had in comparison to PKD2 children significantly higher total number of renal cysts ( $13.3\pm 12.5$  vs.  $3.0\pm 2.1$ ,  $p=0.004$ ), larger kidneys (right/left kidney length  $0.89\pm 1.22$  vs.  $0.17\pm 1.03$  SDS,  $p=0.045$  and  $1.19\pm 1.42$  vs.  $0.12\pm 1.09$  SDS,  $p=0.014$ , successively) and higher ambulatory daytime and nighttime systolic BP (daytime/nighttime BP index  $0.93\pm 0.10$  vs.  $0.86\pm 0.05$ ,  $p=0.021$  and  $0.94\pm 0.07$  vs.  $0.89\pm 0.04$ ,  $p=0.037$ , successively). There were no significant differences in office BP, creatinine clearance or proteinuria. Prenatal renal cysts (14%), hypertension defined by ambulatory BP (27%) and enlarged kidneys (32%) were observed only in PKD1 children.

This is the first study on genotype-phenotype correlation in children with ADPKD. PKD1 children have more and larger renal cysts, larger kidneys and higher ambulatory BP than PKD2 children. Prenatally detected renal cysts and enlarged kidneys are highly specific for PKD1 children.

**Key words**

autosomal dominant polycystic kidney disease, PKD1 gene, PKD2 gene, renal function, ultrasound, blood pressure, hypertension, children

**Introduction**

Autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) is the most frequent inherited renal disorder with an incidence of 1:500-1:1000. It is characterized by progressive development of renal cysts leading to deterioration of renal function and chronic renal failure in adults [1]. Other common renal complications are hypertension, proteinuria, macrohaematuria and urinary tract infections. Extrarenal complications include the cardiovascular system, gastrointestinal system and connective tissue abnormalities – most common are cardiac valve abnormalities, cerebral berry aneurysms and hepatic, pancreatic or spleen cysts, and herniae of the anterior abdominal wall [2, 3]. ADPKD is caused by mutation in one of two known genes – PKD1 (85% of patients) or PKD2 (14%) [4]. A proposed third gene PKD3 (about 1%) has not yet been localised [5-7]. Many studies in adults have shown that patients with mutations in the PKD2 gene have a better prognosis than PKD1 patients [1, 8, 9]. The mean age at end stage renal disease (ESRD) or death was 53 yrs in PKD1 and 69 yrs in PKD2, the mean age at ESRD in PKD1 was 54 yrs, in PKD2 74 yrs and the patients with PKD1 mutations had a four times higher prevalence of arterial hypertension [10]. The cyst number and the volume of the cysts are higher in PKD1 than in PKD2 patients [11]. Several studies have proved that symptoms of

ADPKD such as renal cysts, hypertension or proteinuria may be observed also in childhood [12-19]. However, there is no study on possible differences in the manifestation of the disease in children with known PKD1 and PKD2 mutations. Therefore the aim of our study was to compare clinical and sonographical manifestations in children with genetically proven ADPKD caused by mutations in the PKD1 or PKD2 genes.

## **Patients and methods**

### *Patients*

All 260 children with ADPKD followed-up at our paediatric nephrology centre were reviewed for eligibility for the study. The only inclusion criterion for entering this retrospective study was a known type of mutated PKD gene regardless of age, ultrasound finding etc. Two hundred children were excluded from the study because of an unknown type of mutated PKD gene (DNA analysis was not performed on 124 children – their parents did not consent to the molecular genetic investigation; there was a non-informative result of the DNA analysis in 76 children). All sixty children with ADPKD and a known type of mutated PKD gene (50 PKD1 patients – 27 boys and 23 girls from 38 families, 10 PKD2 patients – 3 boys and 7 girls from 8 families) were included in this retrospective study; nobody was excluded from the study for any other reason. Thirty-six patients with PKD1 and four patients with PKD2 have inherited their mutation from their mother.

The diagnosis of ADPKD was based on a positive family history (ADPKD in the parent) combined with the presence of at least two renal cysts in children with positive indirect molecular genetic analysis or on a positive family history combined with positive direct molecular genetic analysis (identified mutation) regardless of renal ultrasound findings. The demographic data in children with PKD1 mutations were similar to children with PKD2 mutations (Table 1). Symptoms and complications of ADPKD in their past medical history were analysed. Phenotype characteristics (ultrasound findings, renal function and blood pressure) from the first examination at our centre were analysed.

### *Molecular genetic analysis*

All 50 children with PKD1 were diagnosed by indirect molecular genetic analysis (linkage analysis) using four CA-repeat markers for the PKD1 gene (16AC2.5, CW2, CW3D, KG8), that has excluded linkage to PKD2. All 10 children with PKD2 were diagnosed by linkage analysis using CA-repeat markers for the PKD2 gene (D4S231, D4S414, D4S1534, D4S1563, AICA1, JSTG3, JSTG4), that has excluded linkage to PKD1. The mean number of genotyped family members in linkage analysis was  $6.1 \pm 1.3$  (range 4-10). Six of the PKD2 children also had direct DNA analysis. DNA was extracted from peripheral blood lymphocytes using standard procedures. The 15 coding exons and adjacent splice junction sites of the PKD2 gene of one affected member from each family were amplified by the polymerase chain reaction using a set of 17 primers described previously [20]. One affected member from each family was analysed by heteroduplex analysis (HA) [21]. Samples that exhibited shifted



bands on HA were sequenced on an automatic fluorescent sequencer, ABI Prism™ 310 Genetic Analyser (PE Applied Biosystems, Foster City, California, USA). The segregation of the mutation with the disease in each family was tested by either HA and/or by sequencing. Three different mutations were found in five PKD2 children: c.203\_204insC (p.Pro68fs23X) (two siblings and one nonrelated patient) [22]; c.2050\_2053delTACT (p.Tyr648fs2X) (one patient) [21]; c.916C>T (p.Arg306X) (one patient) [23]. The mutation was not found in one patient.

All parents with proven ADPKD sent to our tertiary paediatric nephrology centre with their children undergo genetic and nephrological consultations about ADPKD and after that they can make a voluntary decision about the further investigation of their children. Their informed consent is necessary for the molecular genetic investigation of each child (as required by the law of the Czech Ministry of Health Nr. 385/2006).

#### *Ultrasound*

Renal ultrasound was performed using Toshiba Aplio XG (Tochigi, Japan) or Toshiba Power Vision 6000 (Otawara, Japan) to determine the length of each kidney, number of cysts in each kidney and diameter of the greatest cyst. The kidney length was compared with standards [24] and expressed as standard deviation scores (SDS). An enlarged kidney was defined as kidney length  $\geq 2.00$  SDS. Abdominal ultrasound was performed to reveal hepatic or pancreatic cysts.

#### *Biochemistry*

Fresh urine specimens were tested for haematuria and proteinuria by dipstick. Urine collected over 24 hours was tested for quantitative measurement of total protein (Biuret method) in children able to collect 24-hours urine (37 children with PKD1 and seven patients with PKD2).

Serum creatinine was measured (Jaffe method) and the glomerular filtration rate (GFR) was calculated for patients that were more than two years old according to the Schwartz formula [25].  $\text{GFR} < 1.50 \text{ ml/s/1.73 m}^2$  was used to define decreased GFR in these patients [26]. Patients under the age of two years were not assessed in this definition.

#### *Blood pressure*

Clinic blood pressure (BP) was measured using mercury sphygmomanometer by standard technique [27]. The BP index was calculated (patient's measured BP value divided by the BP value of the 95<sup>th</sup> percentile for given sex, age and height). Elevated BP was defined as systolic or diastolic BP index  $\geq 1.00$ . Ambulatory BP monitoring (ABPM) was performed over 24 hours using a SpaceLabs 90207 or 90217 oscillometric monitor (Redmont, Washington, USA) in children with body height  $\geq 120$  cm (33 children with PKD1 and five children with PKD2). BP was automatically recorded every 20 min during the daytime and every 30 min at night. Mean BP during the daytime and at nighttime were calculated and compared with standards [28]. The BP index for systolic and diastolic BP during daytime and nighttime was calculated (patient's BP value divided by the BP value of the 95<sup>th</sup> percentile for given sex and height). Hypertension was defined as daytime or nighttime systolic or

diastolic BP index  $\geq 1.00$ . We also determined the nocturnal dip of BP as a percentage of mean nighttime BP decrease compared with mean daytime BP. All but one child were without antihypertensive therapy at the time of the study.

#### *Statistical methods*

Quantitative parameters were assessed by the one- and two-tailed Mann-Whitney's test and t-test (according to the normality of the assessed data's distribution). Fisher's test was used to compare qualitative variables. GraphPad Prism 4 for Windows, Version 4.01. was used for all statistical calculations. The p-values  $< 0.05$  were considered to be statistically significant.

## **Results**

### *Clinical manifestation*

Most patients were primarily investigated because of the presence of ADPKD in their parents. Only three patients were primarily investigated and diagnosed to have ADPKD because of symptoms related to ADPKD: two with PKD1 (macrohaematuria in both cases) and one with PKD2 (recurrent urinary tract infection). The mean age at diagnosis was  $5.4 \pm 4.3$  yrs in the PKD1 group and  $7.9 \pm 5.0$  yrs in the PKD2 group ( $p = 0.144$ ; NS).

Subjective symptoms possibly attributable to ADPKD in their past medical history (abdominal pain and headache) were exhibited by nine PKD1 patients (18%) and no PKD2 patient. One patient with PKD1 had a mitral valve prolapse. A history of urinary tract infection was found in six PKD1 patients (12%) and one PKD2 patient (10%). Three PKD1 patients (6%) and no PKD2 patient had macrohaematuria. There were anamnestic data on elevated clinic BP in seven patients with PKD1 (14%) and no patient with PKD2. But all of these symptoms were identified retrospectively - patients were investigated because of positive family history. No statistically significant differences in these parameters between children with PKD1 and PKD2 were found.

### *Ultrasound findings*

Kidney length expressed in SDS was significantly higher in PKD1 than in PKD2 patients (Table 2). Enlarged kidneys were significantly more frequent in patients with PKD1 than in patients with PKD2. The total number of renal cysts and diameter of the greatest cyst were significantly higher in PKD1 children than in PKD2 children (Table 2). Children with PKD1 had significantly more often bilateral renal cysts than children with PKD2. Four children with PKD2 mutations had no visible renal cyst at the time of the study. No patient had hepatic or pancreatic cysts.

### *Urinalysis and renal function*

Proteinuria by dipstick was positive in seven PKD1 patients (14%) and no PKD2 patient ( $p = 0.293$ ; NS). No patient had microhaematuria in any group. The quantitative proteinuria was  $185 \pm 234$  mg/m<sup>2</sup>/day in the PKD1 group and  $134 \pm 65$  mg/m<sup>2</sup>/day ( $p = 0.350$ ; NS; 42 PKD1 and eight PKD2 patients were examined). Pathological proteinuria ( $\geq 96$  mg/m<sup>2</sup>/day) was present in 20 cases (48%) in PKD1 and in 4 cases (50%) in the PKD2 group ( $p = 0.601$ ; NS).

The mean glomerular filtration rate was similar in both groups:  $1.93 \pm 0.36$  ml/s/1.73 m<sup>2</sup> in the PKD1 group and  $2.00 \pm 0.43$  ml/s/1.73 m<sup>2</sup> ( $p = 0.453$ ; NS; all 60 patients were examined). Only one three years old boy with a PKD1 mutation had mildly decreased GFR ( $1.38$  ml/s/1.73 m<sup>2</sup>).

#### *Clinic BP*

Systolic and diastolic clinic BP was similar in both groups (Table 3). Ten patients with PKD1 (20%) and three patients with PKD2 (30%,  $p = 0.383$ ; NS) had elevated clinic BP.

#### *Ambulatory BP monitoring*

Children with PKD1 mutations had significantly higher BP indexes of daytime and nighttime systolic BP than PKD2 children (Table 3). Nine PKD1 patients (27%) and no PKD2 patient were hypertensive by ABPM criteria ( $p = 0.237$ ; NS).

#### *Patients with very early onset of ADPKD (VEO-ADPKD)*

Renal cysts were detected prenatally by routine prenatal ultrasonography in seven patients with PKD1 (five of them had inherited PKD1 mutation maternally and two of them paternally) and in no patient with PKD2. All these PKD1 patients had a normal amount of amniotic fluid (no oligohydramnion) and normal length of kidneys prenatally; one of them had higher echogeneity of the kidneys prenatally. The mean age of these patients at the time of the study was  $2.0 \pm 2.8$  yrs. All patients had normal renal function, four patients had pathological proteinuria, mean proteinuria was  $252 \pm 306$  mg/m<sup>2</sup>/day, no one had subjective symptoms or haematuria, one had hypertension (by clinic BP and ABPM) and one patient had a positive history of urinary tract infection. The length of right/ left kidney in this group was  $0.51 \pm 1.09$  SDS/  $1.29 \pm 1.09$  SDS, two patients had enlarged kidneys, mean number of renal cysts was  $15.2 \pm 15.0$ , mean diameter of the greatest cyst was  $13.3 \pm 10.9$  mm and six had bilateral renal cysts.

## **Discussion**

This is the first study on genotype-phenotype correlation in children with ADPKD. We were able to demonstrate differences in the phenotype between patients with PKD1 and PKD2 mutation even in paediatric age. We examined patients from the database of patients with ADPKD in our tertiary paediatric nephrology centre, which contains one of the largest cohorts of children with ADPKD. We investigated phenotype characteristics of the patients during their first examination at our centre. The ratio between children with PKD1 and PKD2 was 83% to 17%, which corresponds well with the proportion of PKD1 and PKD2 mutations in patients with ADPKD.

Several studies of adults have shown that patients with PKD1 have a higher number of renal cysts, larger cysts, more prevalent hypertension and faster progression to end-stage renal disease (ESRD) than patients with PKD2 [1, 8, 9].

We were able to demonstrate that children with PKD1 have a higher number of renal cysts and larger cysts than children with PKD2 at a similar age. Furthermore children with PKD1 more often had bilateral renal cysts and enlarged kidneys than PKD2 children (no enlarged kidney was observed in

PKD2 children). These data show that the differences in phenotype presentation between patients with PKD1 and PKD2 start early in childhood or even prenatally as we could detect prenatal renal cysts only in children with PKD1. Therefore prenatal finding of renal cysts seems to have very high specificity for PKD1 mutation, however with low sensitivity. The authors have no information about prenatal or neonatal manifestation of ADPKD caused by PKD2 mutation. Practically all studies dealing with VEO of ADPKD did not differ between patients with PKD1 and PKD2 mutation (patients are usually not investigated for type of mutation). Only some studies describing VEO of ADPKD patients describe the type of mutated gene – and all these patients have PKD1 mutations [16, 17, 19].

In our study there was no difference in GFR between children with PKD1 and PKD2. Only one child with PKD1 had decreased GFR. This is in agreement with the known fact that in childhood renal function is well preserved in the majority of patients and that GFR begins to decline after the paediatric age [29]. The patient with decreased GFR was diagnosed at the age of two years because of the positive family history of ADPKD, at the time of the study he was three years old. He had recurrent episodes of abdominal pain in his past medical history, only two renal cysts and no enlargement of the kidneys on ultrasound. He had mild proteinuria (126 mg/m<sup>2</sup>/day) and his ambulatory BP was normal.

We were able to demonstrate that children with PKD1 more often have hypertension and have significantly higher ambulatory systolic BP at daytime and nighttime than children with PKD2. Higher BP and the higher prevalence of hypertension could be, besides the more severe cystic involvement of the kidneys, one of the reasons why patients with PKD1 progress earlier to ESRD as hypertension is an important risk factor for progression of chronic kidney diseases in children as well [30-32].

Seven patients with PKD1 had prenatally detected renal cysts. This represents 12% of all ADPKD patients and 14% of PKD1 patients. This proportion is quite high in confrontation with other literary information. While previous studies showed a poor prognosis for VEO-ADPKD [17], more recent studies demonstrate a better prognosis for these patients [19, 33]. The results of our study are in agreement with recent publications and suggest a relatively good prognosis for VEO-ADPKD patients. One of the possible explanations for this can be the improvement of ultrasound resolution during the past few years and the detection of milder forms of VEO-ADPKD than in the past.

One of the limitations of our study is the low number of patients in the PKD2 group, which made the differences in many qualitative parameters statistically insignificant. We think this is the main cause of non-significant results in some parameters, which were negative in all patients with PKD2 (e.g. prevalence of subjective symptoms, urinary tract infection, macrohaematuria or quantitative proteinuria and hypertension according to ABPM). We believe these results are clinically important in spite of the lack of statistical significance and that children with macrohematuria, hypertension or proteinuria are more likely to have PKD1 than PKD2 and therefore more likely to have an overall worse long-term prognosis.

ADPKD is characterized by high intrafamilial variability of disease severity and progression. The assessment of this variability is quite complicated in this study - the siblings were examined at different ages (at the patient's first examination in our centre). Furthermore, 95% of the children were investigated because of positive family history - we cannot compare the age at manifestation. One of the possible comparisons is the prenatal presence of renal cysts - all patients had prenatal ultrasound examination. 2/7 PKD1 patients with prenatal renal cysts have siblings - their siblings had renal cysts at the age of 5.5 yrs and 1 yr. We think that from the low number of patients from the same families (12 siblings with PKD1 and two with PKD2) no significant conclusions can be drawn on the intrafamilial variability of the disease from our study.

The authors are well aware that presymptomatic genetic testing in ADPKD can be seen as controversial especially in the USA. Psychological and economical aspects are often discussed. In Europe including the Czech Republic the situation is more liberal and the early detection of potential complications is highlighted, especially the treatable complications, such as hypertension or proteinuria found in up to 34% of clinically asymptomatic children with ADPKD [18]. Furthermore, the exclusion of ADPKD by linkage analysis could be very important for parents. All the parents of children included in this study underwent genetic and nephrological consultations about ADPKD and the further investigation was voluntary. The informed consent of the parents for molecular genetic investigation of each child is necessary. In the Czech Republic, presymptomatic genetic testing is permitted by law. When we assessed our 60 patients included in this study - all PKD1 patients (50/50) had renal cysts and 6/10 PKD2 had renal cysts at the time of the study. Furthermore, nearly 30% of the mainly clinically asymptomatic children were hypertensive and 50% had proteinuria, and thus had the most important treatable complications of ADPKD that are also risk factors for progression and need to be treated.

Other potential limitations of our study are consequence of indirect molecular genetic analysis and its risk of fault differentiation between PKD1 and PKD2. The main problems of linkage analysis are especially the number of investigated family members (low number of investigated family members is usually the cause of non-informative family - in our study 56% of investigated children were from non-informative families), potential risk of recombination (very low probability of mistake especially in PKD2 as the PKD2 markers are located at both 3' and 5' ends of the PKD2 gene) and late manifestation of autosomal dominant polycystic kidney disease (we have excluded ADPKD only in patients over 30 years and normal renal ultrasound). These limitations of the linkage analysis, predominantly used in our study to distinguish between PKD1 and PKD2 could lead to some misinterpretation of the classification into the PKD1 and PKD2 groups. However, we think, thank the low probability of misclassification into PKD1 and PKD2 groups (lower than 5% in all tested families) could not significantly affect the final results, i.e. mainly the large differences in ultrasound findings between PKD1 and PKD2 groups.

## Conclusions

This is the first study on genotype-phenotype correlation in children with ADPKD. It has shown significant differences between patients with mutations in the PKD1 gene and PKD2 gene in an early stage of ADPKD. Children with PKD1 mutations have a higher number of renal cysts and larger cysts than children with PKD2 mutations. Moreover children with PKD1 mutations more often have enlarged kidneys and bilateral renal cysts. Furthermore they have higher systolic ambulatory blood pressure and are more often hypertensive than children with PKD2 mutation. Prenatal finding of renal cysts or postnatal enlarged kidneys were observed only in patients with mutations in the PKD1 gene.

## Acknowledgements

This study was supported by grants VZ MZ CR 00064203, MSMT CR 0021620819 and IGA MZ CR NR/9427-3.

We thank all paediatric nephrologists for referring children with polycystic kidney diseases to our centre and we wish to thank Dr.J.Židovská, Dr.J.Reiterová, Dr.M.Koudová, Dr.I.Grochová and Dr.F.Lošan for information about the families. We are grateful to the families for their cooperation.

## References

1. Gabow PA, Johnson AM, Kaehny WD, Kimberling WJ, Lezotte DC, Duley IT, Jones RH (1992) Factors affecting the progression of renal disease in autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 41:1311-19
2. Gabow PA (1993) Autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 329:332-42
3. Gabow PA (1990) Autosomal dominant polycystic kidney disease: more than a renal disease. *Am J Kidney Dis* 16:403-13
4. Peters DJM, Sandkuijl LA (1992) Genetic heterogeneity of polycystic kidney disease in Europe. *Contrib Nephrol* 97:128-39
5. Daoust MC, Reynolds DM, Bichet DG, Somlo S (1995) Evidence for a third genetic locus for autosomal dominant polycystic kidney disease. *Genomics* 25:733-36
6. Turco AE, Clementi M, Rosetti S, Tneconi R, Franco Pignatti P (1996) An Italian family with autosomal dominant polycystic kidney disease unlinked to either the PKD1 or PKD2 gene. *Am J Kidney Dis* 28:759-61
7. Ariza M, Alvarez V, Marín R, Aguado S, López-Larrea C, Alvarez J, Menéndez MJ, Coto E (1997) A family with a milder form of adult dominant polycystic kidney disease not linked to the PKD1 (16p) or PKD2 (4q) genes. *J Med Genet* 34:587-89
8. Ravine D, Walker RG, Gibson RN, Forrest SM, Richards RI, Friend K, Sheffield LJ, Kincaid-Smith P, Danks DM (1992) Phenotype and genotype heterogeneity in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Lancet* 340:1330-33
9. Torra R, Badenas C, Darnell A, Nicolau C, Volpini V, Revert L, Estivill X (1996) Linkage, clinical features, and prognosis of autosomal dominant polycystic disease type 1 and 2. *J Am Soc Nephrol* 7:2142-51
10. Hateboer N, v Dijk MA, Bogdanova N, Coto E, Saggat-Malik AK, San Millan JL, Torra R, Breuning M, Ravine D (1999) Comparison of phenotypes of polycystic kidney disease types 1 and 2. European PKD1-PKD2 Study Group. *Lancet* 353(9147):103-07
11. Harris PC, Bae KT, Rossetti S, Torres VE, Grantham JJ, Chapman AB, Guay-Woodford LM, King BF, Wetzel LH, Baumgarten DA, Kenney PJ, Consugar M, Klahr S, Bennett WM, Meyers CM, Zhang QJ, Thompson PA, Zhu F, Miller JP (2006) Cyst number but not the rate of cystic growth is associated with the mutated gene in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 17(11):3013-19
12. Kaplan BS, Rabin I, Nogrady MB, Drummond KN (1977) Autosomal dominant polycystic renal disease in children. *J Pediatr* 90:782-83
13. Kääriäinen H, Koskimies O, Norio R (1988) Dominant and recessive polycystic kidney disease in children: evaluation of clinical features and laboratory data. *Pediatr Nephrol* 2:296-302
14. Gagnadoux MF, Habib R, Levy M, Brunelle F, Broyer M (1989) Cystic renal diseases in children. *Adv Nephrol* 18:33-58
15. Zerres K, Rudnik-Schöneborn S, Deget F, and members of the German working group on paediatric nephrology (1993) Childhood onset autosomal dominant polycystic kidney disease in sibs: clinical picture and recurrence risk. *J Med Genet* 30:583-88

16. Fick GM, Johson AM, Strain JD, Kimberling WJ, Kumar S, Manco-Johnson ML, Duley IT, Gabow PA (1993) Characteristics of very early onset autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 3(12):1863-70
17. MacDermot KD, Sagar-Malik AK, Economides DL, Jeffery S (1998) Prenatal diagnosis of autosomal dominant polycystic kidney disease (PKD1) presenting in utero and prognosis for very early onset disease. *J Med Genet* 35(1):13-16
18. Seeman T, Sikut M, Konrad M, Vondrichova H, Janda J, Scharer K (1997) Blood pressure and renal function in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 11(5):592-96
19. Boyer O, Gagnadoux MF, Guest G, Biebuyck N, Charbit M, Salomon R, Niaudet P (2007) Prognosis of autosomal dominant polycystic kidney disease diagnosed in utero or at birth. *Pediatr Nephrol* 22(3):380-8
20. Hayashi T, Mochizuki T, Reynolds DM, Wu G, Cai Y, Somlo S (1997) Characterization of the exon structure of the polycystic kidney disease 2 gene (PKD2). *Genomics* 44:131-36
21. Reiterová J, Štekrová J, Peters DJ, Kapras J, Kohoutová M, Merta M, Zidovská J (2002) Four novel mutations of the PKD2 gene in Czech families with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Human Mutat MIB* 506 (Online)
22. Štekrová J, Reiterová J, Merta M, Damborsky J, Zidovská J, Kebrdlová V, Kohoutová M (2004) PKD2 mutations in a Czech population with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 19:1116-22
23. Veldhuisen B, Saris JJ, de Haij S, Hayashi T, Reynolds DM, Mochizuki T, Elles R, Fosdhal R, Bogdanova N, van Dijk MA, Coto E, Ravine D, Nørby S, Verellen-Dumoulin C, Breuning MH, Somlo S, Peters DJ (1997) A spectrum of mutations in the second gene for autosomal dominant polycystic kidney disease (PKD2). *Am J Hum Genet* 61:547-55
24. Dinkel E, Ertel M, Dittrich M, Peters H, Berres M, Schulte-Wissermann H (1985) Kidney size in childhood: sonographical growth charts for kidney length and volume. *Pediatr Radiol* 15:38-43
25. Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A (1987) The use of plasma creatinine concentration to estimate glomerular filtration rate in infancy, childhood and adolescence. *Pediatr Clin North Am* 34:571-90
26. Hogg RJ, Furth S, Lemley KV, Portman R, Schwartz GJ, Coresh J, Balk E, Lau J, Levin A, Kausz AT, Eknoyan G, Levey AS (2003) National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease in Children and Adolescents: Evaluation, Classification, and Stratification. *Pediatrics* June 111(6):1416-21
27. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents (2004) *Pediatrics* 114(2 Suppl 4th Report):555-76
28. Soergel M, Kirschstein M, Busch C, Danne T, Gellermann J, Holl R, Krull F, Reichert H, Reusz GS, Rascher W (1997) Oscillometric twenty-four hour ambulatory blood pressure values in healthy children and adolescents: a multicenter trial including 1141 subjects. *J Pediatr* 130:178-84
29. Rizk D, Chapman A (2008) Treatment of autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD): the new horizon for children with ADPKD. *Pediatr Nephrol* 23(7):1029-36
30. Wingen AM (1997) Chronic kidney failure-etiology and sequelae. *Kinderkrankenschwester* 16(4):132-34
31. Geberth S, Stier E, Zeier M, Mayer G, Rambousek M, Ritz E (1995) More adverse renal prognosis of autosomal dominant polycystic kidney disease in families with primary hypertension. *J Am Soc Nephrol* 6:1643-48
32. Choukroun G, Itakura Y, Albouze G, Christophe JL, Man NK, Grünfeld JP, Jungers P (1996) Factors influencing progression of renal failure in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 6:1634-42
33. Shamshirsaz AA, Reza Bekheirnia M, Kamgar M, Johnson AM, McFann K, Cadnapaphornchai M, Nobakhtghighi N, Schrier RW (2005) Autosomal-dominant polycystic kidney disease in infancy and childhood: progression and outcome. *Kidney Int* 68(5):2218-24

## List of tables

	PKD1	PKD2	p value
<b>Number of patients</b>	<b>50</b>	<b>10</b>	
Age [years]	8.6 ± 5.4	8.9 ± 5.6	0.905 (NS)
Height [cm]	130.7 ± 38.7	134.1 ± 32.0	0.976 (NS)
Weight [kg]	34.8 ± 22.6	35.5 ± 20.4	0.851 (NS)
Body surface area [m <sup>2</sup> ]	1.11 ± 0.53	1.13 ± 0.46	0.874 (NS)

Table 1. Demographic data of children with autosomal dominant polycystic kidney disease (PKD1...patients with mutation in polycystic kidney disease 1 gene, PKD2...patients with mutation in polycystic kidney disease 2 gene, data are mean value ± standard deviation).

	PKD1	PKD2	p value
<b>Number of patients</b>	<b>50</b>	<b>10</b>	
Right kidney [SDS]	0.89 ± 1.22	0.17 ± 1.03	<b>0.045</b>
Left kidney [SDS]	1.19 ± 1.42	0.12 ± 1.09	<b>0.014</b>
Total number of cysts	13.39 ± 12.53	3.00 ± 2.10	<b>0.004</b>
Diameter of the greatest cyst [mm]	16.79 ± 10.65	5.08 ± 1.53	<b>0.005</b>
Enlarged kidneys	16 (32%)	0 (0%)	<b>0.033</b>
Bilateral renal cysts	43 (86%)	3 (30%)	<b>0.001</b>

Table 2. Ultrasound findings in children with autosomal dominant polycystic kidney disease (PKD1...patients with mutation in polycystic kidney disease 1 gene, PKD2...patients with mutation in polycystic kidney disease 2 gene, SDS...standard deviation score; the data are mean value ± standard deviation or number of patients and frequencies (last two lines); significant results are in bold).

	PKD1	PKD2	p value
<b>Clinic BP</b>			
<b>Number of patients</b>	<b>50</b>	<b>10</b>	
Systolic BP index	0.88 ± 0.09	0.90 ± 0.10	0.800 (NS)
Diastolic BP index	0.85 ± 0.11	0.87 ± 0.18	0.927 (NS)
<b>ABPM</b>			
<b>Number of patients</b>	<b>33</b>	<b>5</b>	
BP index of the daytime systolic BP	0.93 ± 0.10	0.86 ± 0.05	<b>0.021</b>
BP index of the daytime diastolic BP	0.84 ± 0.10	0.81 ± 0.11	0.925 (NS)
BP index of the nighttime systolic BP	0.94 ± 0.07	0.89 ± 0.04	<b>0.037</b>
BP index of the nighttime diastolic BP	0.88 ± 0.13	0.82 ± 0.09	0.333 (NS)
Nighttime dip of systolic BP [%]	10.2 ± 6.5	9.7 ± 4.8	0.769 (NS)
Nighttime dip of diastolic BP [%]	16.4 ± 9.5	22.5 ± 6.6	0.203 (NS)

Table 3. Blood pressure in children with autosomal dominant polycystic kidney disease (PKD1...patients with mutation in polycystic kidney disease 1 gene, PKD2...patients with mutation in polycystic kidney disease 2 gene, BP...blood pressure; ABPM...ambulatory monitoring of blood pressure; the data are mean value ± standard deviation; significant results are in bold).



### 3 VÝSLEDKY

#### *Klinická manifestace*

Většina pacientů byla diagnostikována na podkladě pozitivní rodinné anamnézy ADPKD - diagnóza ADPKD u stanovená rodičů pacientů. Pouze 3 děti byly primárně vyšetřovány pro symptomy mající vazbu na ADPKD - přítomnost makroskopické hematurie u dvou dětí s PKD1 mutací a opakované infekce močových cest u jednoho dítěte s mutací v PKD2 genu. Průměrný věk při diagnóze ADPKD byl  $5,4 \pm 4,3$  roku ve skupině PKD1 a  $7,9 \pm 5,0$  roku ve skupině PKD2 ( $p = 0,144$ ; NS).

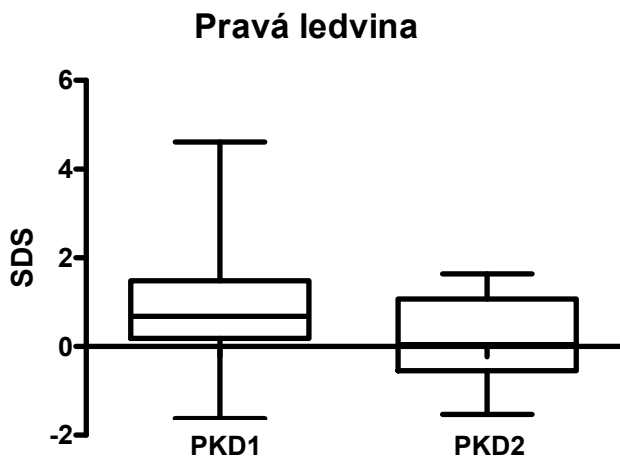
Subjektivní symptomy s potenciálním vztahem k ADPKD (bolesti břicha a hlavy) byly zpětně anamnesticky vystopovány u 9 PKD1 pacientů (18%) a u žádného PKD2 pacienta. Jeden pacient s PKD1 mutací měl prolaps mitrální chlopně. Prodělanou infekci močových cest mělo v anamnéze 6 PKD1 pacientů (12%) a jeden PKD2 pacient (10%). Tři PKD1 pacienti (6%) a žádný PKD2 pacient měli v anamnéze ataku makroskopické hematurie. Anamnestický údaj o zvýšeném příležitostném krevním tlaku (TK) mělo 7 PKD1 pacientů (14%) a žádný PKD2 pacient. V žádném z těchto parametrů se skupiny PKD1 a PKD2 statisticky signifikantně nelišily.

#### *Ultrazvukové nálezy*

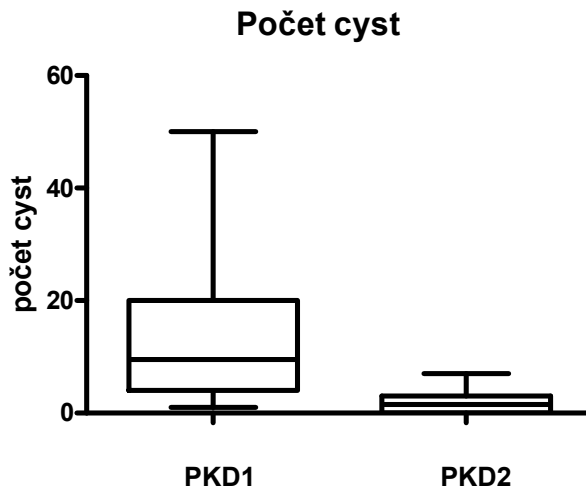
Pacienti s mutací PKD1 měli ve srovnání se skupinou PKD2 signifikantně četnější zvětšené ledviny i větší velikost ledvin vyjádřenou ve skóre směrodatné odchylky SDS. Celkový počet ledvinných cyst a průměr největší cysty byly rovněž signifikantně větší ve skupině PKD1 dětí, zároveň měli pacienti s PKD1 mutací bilaterální ledvinné cysty než pacienti s PKD2 mutací. 4 PKD2 pacienti neměli v době studie ultrazvukově prokazatelné renální cysty. U žádného pacienta z obou skupin nebyly detekovány jaterní ani pankreatické cysty. Grafické srovnání velikostí pravé a levé ledviny, celkového počtu cyst a velikosti největší cysty u pacientů s ADPKD - viz grafy č. 1-4.

	PKD1	PKD2	p value
<b>Počet vyšetřených pacientů</b>	<b>50</b>	<b>10</b>	
Pravá ledvina [SDS]	$0,89 \pm 1,22$	$0,17 \pm 1,03$	<b>0,045</b>
Levá ledvina [SDS]	$1,19 \pm 1,42$	$0,12 \pm 1,09$	<b>0,014</b>
Celkový počet cyst	$13,39 \pm 12,53$	$3,00 \pm 2,10$	<b>0,004</b>
Průměr největší cysty [mm]	$16,79 \pm 10,65$	$5,08 \pm 1,53$	<b>0,005</b>
Zvětšené ledviny	16 (32%)	0 (0%)	<b>0,033</b>
Bilaterální renální cysty	43 (86%)	3 (30%)	<b>0,001</b>

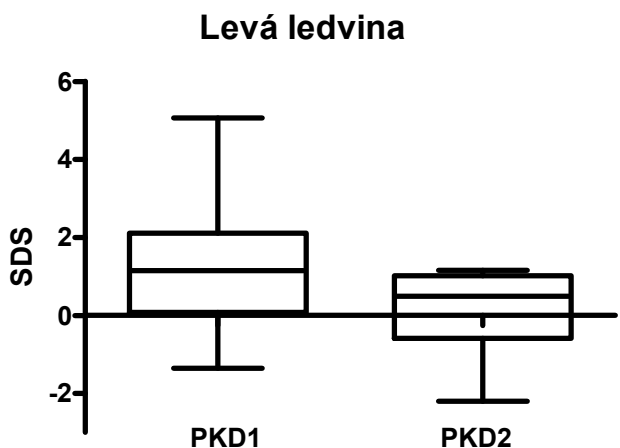
*Tabulka ultrazvukových nálezů (PKD1...pacienti s mutací v PKD1 genu, PKD2...pacienti s mutací v PKD2 genu, SDS...standard deviation score; data jsou uvedena jako průměrná hodnota  $\pm$  směrodatná odchylka nebo jako počet pacientů a procento pacientů (první řádek a poslední dva řádky); statisticky signifikantní nálezy jsou uvedeny tučně).*



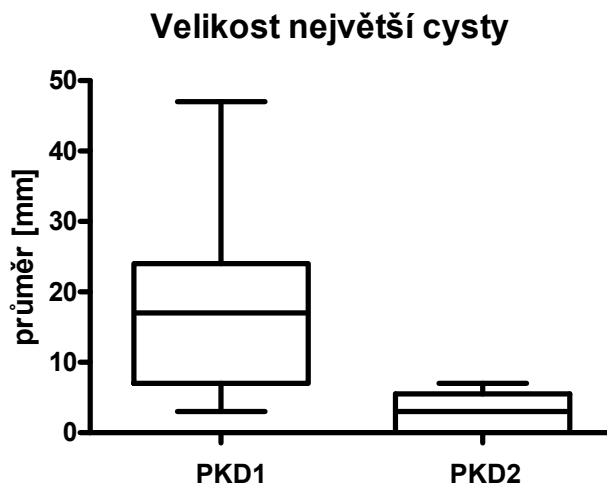
Graf č. 1 Velikost pravé ledviny u PKD1 a PKD2 pacientů (box graf - min., 1. kvartil, medián, 3. kvartil, max.);  $p=0,045$



Graf č. 3 Celkový počet cyst u PKD1 a PKD2 pacientů (box graf - min., 1. kvartil, medián, 3. kvartil, max.);  $p=0,004$



Graf č. 2 Velikost levé ledviny u PKD1 a PKD2 pacientů (box graf - min., 1. kvartil, medián, 3. kvartil, max.);  $p=0,014$



Graf č. 4 Velikost největší cysty u PKD1 a PKD2 pacientů (box graf - min., 1. kvartil, medián, 3. kvartil, max.);  $p=0,005$

#### Příležitostný krevní tlak

Nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi hodnotami systolického a diastolického krevního tlaku mezi PKD1 a PKD2 skupinou pacientů. Zvýšený krevní tlak podle příležitostného měření TK mělo 10 PKD1 (10%) pacientů a 3 PKD2 (30%) pacienti ( $p = 0,383$ ; NS).

	PKD1	PKD2	p value
<b>Počet vyšetřených pacientů</b>	<b>50</b>	<b>10</b>	
BP index systolického tlaku	0,88 ± 0,09	0,90 ± 0,10	0,800 (NS)
BP index diastolického tlaku	0,85 ± 0,11	0,87 ± 0,18	0,927 (NS)

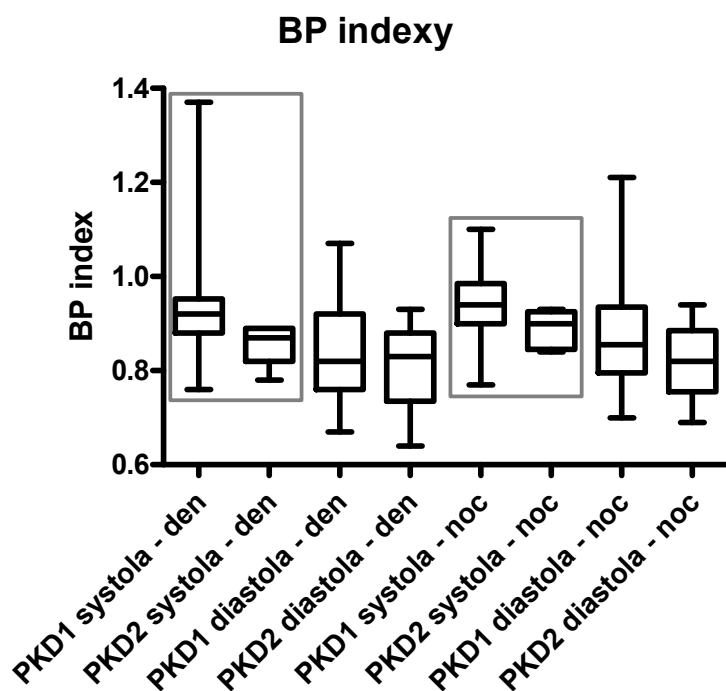
Tabulka hodnot příležitostného krevního tlaku (PKD1...pacienti s mutací v PKD1 genu, PKD2...pacienti s mutací v PKD2 genu, BP...blood pressure; data jsou uvedena jako průměrná hodnota ± směrodatná odchylka).

## 24hod. ambulantní měření krevního tlaku - ABPM

Pacienti s PKD1 mutací měli signifikantně vyšší BP indexy pro denní a noční systolický TK ve srovnání s PKD2 pacienty. Kritéria hypertenze podle ABPM splnilo 9 PKD1 pacientů (27%), žádný PKD2 pacient ( $p=0,237$ ; NS). Grafické srovnání průměrných systolických a diastolických krevních tlaků z denního a nočního období podle ABPM u PKD1 a PKD2 pacientů - viz graf č. 5.

	PKD1	PKD2	p value
<b>Počet vyšetřených pacientů</b>	<b>33</b>	<b>5</b>	
BP index denního systolického TK	0,93 ± 0,10	0,86 ± 0,05	<b>0,021</b>
BP index denního diastolického TK	0,84 ± 0,10	0,81 ± 0,11	0,925 (NS)
BP index nočního systolického TK	0,94 ± 0,07	0,89 ± 0,04	<b>0,037</b>
BP index nočního diastolického TK	0,88 ± 0,13	0,82 ± 0,09	0,333 (NS)
Noční pokles systolického TK [%]	10,2 ± 6,5	9,7 ± 4,8	0,769 (NS)
Noční pokles diastolického TK [%]	16,4 ± 9,5	22,5 ± 6,6	0,203 (NS)

Tabulka hodnot 24hod. ambulantního měření krevního tlaku - ABPM (PKD1...pacienti s mutací v PKD1 genu, PKD2...pacienti s mutací v PKD2 genu, BP...blood pressure; TK...krevní tlak; data jsou uvedena jako průměrná hodnota ± směrodatná odchylka; statisticky signifikantní nálezy jsou uvedeny tučně).



Graf č. 5 Srovnání průměrných systolických a diastolických krevních tlaků z denního a nočního období podle ABPM (24hod. ambulantní monitorování krevního tlaku) u PKD1 a PKD2 pacientů - v rámečku jsou zvýrazněny statisticky signifikantní rozdíly (box graf - min., 1. kvartil, medián, 3. kvartil, max.); BP index pro denní systol. TK:  $p=0,021$ ; BP index pro noční systol. TK:  $p=0,037$

## Proteinurie

Proteinurie z jednorázového vzorku (dipstick) moči byla pozitivní u 7 PKD1 pacientů (14%) a u žádného PKD2 pacienta ( $p=0,293$ ; NS). Hodnoty kvantitativní proteinurie (ze sběru moči) byly

v PKD1 skupině  $185 \pm 234$  mg/m<sup>2</sup>/den a v PKD2 skupině  $134 \pm 65$  mg/m<sup>2</sup>/den ( $p = 0,350$ ; NS; vyšetřeno 42 PKD1 a 8 PKD2 pacientů). Patologická proteinurie ( $\geq 96$  mg/m<sup>2</sup>/den) byla zjištěna u 20 PKD1 pacientů (48%) a 4 PKD2 pacientů (50%) ( $p=0,601$ ; NS). U žádného pacienta z obou skupin nebyla zjištěna mikroskopická hematurie.

#### *Glomerulární filtrace (GFR)*

Hodnoty glomerulární filtrace byly podobné v obou skupinách pacientů -  $1,93 \pm 0,36$  ml/s/1,73 m<sup>2</sup> v PKD1 skupině a  $2,00 \pm 0,43$  ml/s/1,73 m<sup>2</sup> ( $p = 0,453$ ; NS). Pouze jeden 3letý chlapec s mutací v PKD1 genu měl mírně sníženou hodnotu GFR ( $1,38$  ml/s/1,73 m<sup>2</sup>).

#### *Pacienti s velmi časným nástupem ADPKD (VEO-ADPKD)*

Renální cysty byly zjištěny při rutinním prenatálním ultrazvukovém vyšetřování u 7 PKD1 pacientů (pět z nich zdědilo mutaci maternálně, dva zdědili mutaci paternálně) a u žádného PKD2 pacienta. Všichni tito pacienti měli normální množství plodové vody (nikdo z nich neměl oligohydramnion) a normální délku ledvin prenatálně, jeden z nich měl prenatálně vyšší echogenitu ledvinného parenchymu. Průměrný věk těchto 7 PKD1 pacientů v době studie byl  $2,0 \pm 2,8$  roku. Všichni měli normální hodnoty glomerulární filtrace, čtyři měli patologickou proteinurii, průměrná hodnota proteinurie byla  $252 \pm 306$  mg/m<sup>2</sup>/den, žádný pacient neměl subjektivní symptomy ani hematurii, jeden pacient měl hypertenzi (podle příležitostného TK i ABPM) a jeden pacient měl v anamnéze prodělanou infekci močových cest. Délka pravé/levé ledviny v této skupině byla  $0,51 \pm 1,09$  SDS/  $1,29 \pm 1,09$  SDS, dva pacienti měli zvětšené ledviny, průměrný počet renálních cyst byl  $15,2 \pm 15,0$ , průměrná velikost největší cysty byla  $13,3 \pm 10,9$  mm a šest pacientů mělo bilaterální renální cysty.

#### 4 DISKUZE, ZÁVĚRY

Dosud publikované práce zabývající se problematikou ADPKD u dětí hodnotí pouze celkovou frekvenci a závažnost symptomů a komplikací tohoto onemocnění bez rozlišování mezi dvěma formami ADPKD podmíněnými mutacemi v PKD1/PKD2 genu. V našem případě se tedy jedná o první studii korelace genotypu a fenotypu u dětských pacientů s ADPKD a tedy o první práci dokumentující výskyt symptomů a komplikací u dětí v závislosti na typu mutace (gen PKD1/PKD2).

Ve výběru pacientů do studie nelze předpokládat významnější chybu - zařazeni byli všichni pacienti s jasnou diagnózou ADPKD a jasným typem mutace PKD1/PKD2 genu. Nikdo nebyl ze studie vyloučen z jiného důvodu. U pacientů s neprovedenou DNA diagnostikou se jedná výhradně o případy z doby, kdy se DNA diagnostika neprováděla rutinně, a o pacienty, jejichž rodiče nedali s molekulárně genetickým vyšetřením souhlas.

Způsob DNA diagnostiky - v našem případě převážně nepřímá DNA diagnostika (vazebná analýza) - má své limity spočívající především ve velikosti vyšetřované rodiny (nízký počet členů je spojen s nízkou informativitou - v našem případě však byli zařazeni jen pacienti z informativních rodin), v potenciálním riziku rekombinace a možnosti pozdní manifestace ADPKD. Riziko rekombinace je velmi nízké - například v našem případě u genu PKD2, kde jsou diagnostické markery lokalizovány na obou stranách genu, je riziko rekombinace jen 0,12%. U genu PKD1 je riziko poněkud vyšší - markery jsou lokalizovány jen na 3' konci genu, je tedy navíc nutno uvážit i možnost intragenové rekombinace. Celkové riziko nesprávně stanovené vazby na PKD1/PKD2 gen u nepřímé diagnostiky však nepřesahuje 5%. Protože statistické hodnocení výsledků studie je do značné míry závislé zejména na nízkém počtu PKD2 pacientů, byla u 6 PKD2 dětí provedena i přímá DNA diagnostika. Kauzální mutace byla nalezena u 5 z 10 PKD2 pacientů (správnost stanovení PKD2 formy onemocnění je u těchto pacientů tedy 100%), což dále redukuje potenciální chybu diferenciální diagnostiky mezi PKD1 a PKD2. Riziko pozdní manifestace jsme pro DNA diagnostiku minimalizovali jednoznačným vyloučením ADPKD jen u osob ve věku nad 30 let s negativním ultrazvukovým nálezem na ledvinách. Domníváme se tedy, že riziko ovlivnění celkových závěrů studie výše jmenovanými faktory je zanedbatelné (zejména v nejsignifikantnějších rozdílech - např. ultrazvukových nálezech).

Pro interpretaci nálezů je podstatný stupeň shody obou skupin pacientů v antropologických charakteristikách - v našem případě byly prakticky identické, nebyl v nich nalezen žádný statisticky významný rozdíl. Navíc maximum dat bylo převedeno před porovnáváním do věkově nezávislých jednotek (např. velikost ledvin vyjádřená ve skóre směrodatné odchylky SDS, proteinurie v mg/m<sup>2</sup>/den, krevní tlak v indexu TK).

Nejvýraznější rozdíly mezi oběma skupinami byly nalezeny v ultrazvukových nálezech. Bylo jednoznačně prokázáno, že dětské pacienti s PKD1 podmíněným ADPKD mají ve srovnání s PKD2 pacienty výrazně závažnější cystické postižení ledvin - větší počet cyst, větší objem cyst, častější bilaterální cystické postižení ledvin a častěji zvětšené ledviny. Tato pozorování potvrzují, že proces

cystogeneze je u obou skupin pacientů časově výrazně odlišný - u PKD1 pacientů je cystogeneze velmi časná, pravděpodobně proces startuje již prenatálně, zatímco u PKD2 pacientů dochází k tvorbě cyst později. Ve shodě je i vysoký podíl prenatálně detekovatelných cyst (7 z 50 PKD1 dětí) - v našem souboru výrazně vyšší, než by odpovídalo dosud publikovaným malým souborům pacientů nebo jednotlivým kauzistikám (viz kapitola 8 oddílu A). Všechny prenatální ultrazvukové záchyty cystického postižení ledvin se týkaly výhradně PKD1 pacientů, v PKD2 skupině nebyly cysty prenatálně zachyceny u žádného pacienta. Toto pozorování je ve shodě s dostupnými literárními údaji - ačkoli v převážné většině publikací popisujících pacienty s prenatálním cystickým postižením nebyl vyšetřován typ mutace, ve všech případech, kdy byl genotyp vyšetřen, se jednalo o pacienty s mutací genu PKD1. Lze tedy konstatovat, že pozitivní prenatální ultrazvukový nálezn má vysokou specifitu pro PKD1 mutaci blízkou se pravděpodobně 100% (avšak nízkou senzitivitu).

Při posuzování prognózy pacientů s velmi časnou manifestací ADPKD (tzv. VEO-ADPKD - definován jako prenatální/ v prvních 18 měsících života manifestovaná ADPKD) jsou naše závěry ve shodě s novějšími studii, které jsou výrazně příznivější než v minulosti (viz kapitola 8 oddílu A). Je velmi pravděpodobné, že podstatně vyšší zastoupení těchto forem ADPKD ve srovnání se staršími publikacemi je ve skutečnosti dáno pouze jejich lepší detekcí dané obrovským pokrokem v rozlišovacích schopnostech ultrazvukových přístrojů v posledních letech a rutinnímu ultrazvukovému vyšetřování ledvin v některých porodnicích. Tak jsou pravděpodobně detekovány i mírnější formy, což se podílí na lepší prognóze celkového souboru pacientů. Lze předpokládat, že zastoupení VEO-ADPKD se bude stále zvyšovat, neboť proces cystogeneze u většiny (ne-li u všech) pacientů startuje již prenatálně a současnou definici VEO-ADPKD tak bude pravděpodobně splňovat do budoucna stále větší podíl pacientů s ADPKD. Opodstatněnost vyčlenění takové podskupiny pacientů s ADPKD se může stát předmětem k diskusi - zdá se pravděpodobné, že u pacientů s časným výrazným cystickým onemocněním se může jednat pouze o intra- a interfamiliární variabilitu průběhu ADPKD, která je ostatně pro ADPKD charakteristická.

Další statisticky významné rozdíly obou skupin se týkají hodnot krevního tlaku. PKD1 pacienti mají významně vyšší systolický denní i noční krevní tlak dle ABPM. Vyšší TK a vyšší výskyt hypertenze u PKD1 pacientů tak může být jedním z rizikových faktorů, které způsobí horší funkci ledvin v dospělém věku a dřívejší nástup chronického selhání ledvin ve srovnání s PKD2 pacienty.

Mezi zbývajícímí hodnocenými parametry nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly - domníváme se však, že nalezené statisticky nevýznamné rozdíly mohou být v případě některých dat (jako např. kvantitativní proteinurie, výskytu subjektivních obtíží) klinicky významné a že chybění statistické významnosti v rozdílech je dáno spíše nízkým počtem pacientů ve skupině dětí s PKD2 mutací. Ačkoli je tento nízký počet pacientů s PKD2 mutací nepochybně dalším litujícím prvkem naší studie, je v dobré shodě s očekávanou frekvencí PKD2 v běžné populaci (15% v celé populaci ADPKD pacientů, 17% v naší studii).

Nikdo ze sledovaných pacientů neměl detekovány pankreatické či hepatální cysty, u nikoho nebyla zjištěna mikroskopická hematurie. Rovněž nález normální glomerulární filtrace (GFR) u téměř všech pacientů je v dobré shodě s literárními údaji - pouze jeden pacient s PKD1 měl mírně sníženou GFR.

Velmi zdůrazňovaným a diskutovaným problémem je presymptomatická diagnostika ADPKD. V zahraničí (zejména USA) je v současnosti často prosazován názor, že členové rodin, kteří jsou v riziku onemocnění, nemají být vyšetřováni, dokud jsou asymptomatictí - vyšetřování má být zahájeno až v okamžiku příznaků onemocnění. Argumentováno bývá psychologickými i ekonomickými a právními aspekty stanovení ADPKD u dosud asymptomatických jedinců, kteří mají často perspektivu dalších desetiletí života do propuknutí klinicky závažných komplikací onemocnění. V Evropě (vč. České republiky) je přístup k vyšetřování pacientů liberálnější, větší význam je přikládán možnosti presymptomatického záchytu onemocnění včetně možnosti časné terapie léčitelných komplikací (jako jsou hypertenze nebo proteinurie) a také možnosti jednoznačného vyloučení ADPKD u daného dítěte molekulárně genetickým vyšetřením. Konkrétně na našem pracovišti je velký důraz kladen na přání rodiny po edukaci nefrologem a genetikem – genetické vyšetřování bývá například častěji požadováno u rodin s obvykle těžkým průběhem onemocnění a předpokládanou výrazně horší prognózou. Zároveň se domníváme, že ekonomické aspekty jsou při racionální dispenzarizaci a vyšetřovacím programu zdůvodnitelné. Totéž platí i pro psychologickou zátěž rodin vyplývající ze stanovené diagnózy v dětství – zejména po zmiňované předchozí edukaci. Pro řadu rodičů má rovněž velký význam možnost až u 50% procent dětí v riziku ADPKD onemocnění molekulárně genetickým vyšetřením jednoznačně vyloučit. Takové zjištění má rovněž význam ekonomický i psychologický - u těchto pacientů odpadá nutnost mnohaletého pravidelného sledování a opakovaného ultrazvukového vyšetřování. Rovněž je vzhledem k pozdějšímu nástupu symptomů a komplikací u PKD2 varianty ADPKD možné uvažovat o prodloužení intervalů mezi jednotlivými kontrolami u pacientů s prokázanou mutací v PKD2 genu a tím přispět k racionalizaci schématu dispenzárních prohlídek a snížení jeho ekonomické náročnosti a zároveň i snížení zátěže pro dětské pacienty vyplývající z takového sledování.

Velký praktický význam má potvrzení vysokého výskytu proteinurie a hypertenze u pacientů s ADPKD již v dětství, které představují v současnosti hlavní terapeuticky ovlivnitelné komplikace ADPKD. O obou zmíněných komplikacích (proteinurie i hypertenze) bylo již dříve prokázáno, že představují nezávislé rizikové faktory pro rozvoj chronického renálního selhání. Jsou tedy významným argumentem pro presymptomatickou diagnostiku ADPKD umožňující adekvátní a včasnou terapii pacientů na specializovaných nefrologických pracovištích.

Z hlediska v současnosti diskutované a na některých pracovištích již výzkumně testované moderní cílené léčby ADPKD (viz kapitola 10 oddílu A) považujeme za podstatný průkaz velmi časně (pravděpodobně již prenatální) tvorby renálních cyst. Má-li mít tato terapie možnost kauzálního ovlivnění tvorby cyst, musí být nasazena ve velmi nízkých věkových skupinách pacientů - optimálně

již v kojeneckém věku. Výsledky naší studie tedy mohou být brány jako argument pro opodstatněnost takové léčby.

Zajímavým nálezem je vysoká hodnota tubulárního markeru NAG v moči zjištěná i u několika pacientů s prokázanou PKD2 mutací při negativním ultrazvukovém nálezu na ledvinách. Protože NAG v moči nebylo dostupné u všech pacientů zařazených do studie, nebyl tento parametr statisticky vyhodnocován a zahrnut do této studie. Zjištění jeho vysokých hodnot v presymptomatickém či velmi časném stádiu onemocnění u některých pacientů však bude důvodem dalšího systematického vyšetřování.

Do budoucna je v plánu longitudinální sledování všech pacientů z této studie a zhodnocení rychlosti progresu onemocnění - opět zajímavé srovnání dynamiky vývoje nemoci podmíněné mutací PKD1/PKD2 genu. Rovněž přínosné je potenciální rozšíření počtu pacientů - zejména ve skupině PKD2.



**C SEZNAM PŘÍLOH****PŘÍLOHA 1**

Fencel F, Šimková E, Vondrák K, Janda J, Chadimová M, Stejskal J, Seeman T.: Recurrence of nephrotic proteinuria in children with focal segmental glomerulosclerosis after renal transplantation treated with plasmapheresis and immunoadsorption: case reports. *Transplant Proc.* 2007 Dec;39(10):3488-90

**PŘÍLOHA 2**

Fencel F, Seeman T, Šimková E, Janda J: Plazmaferéza a imunoadsorpce v pediatrii. *Čes-Slov Pediat.* (2008) 63(3):148-5

## D PŘÍLOHY

### PŘÍLOHA 1

**Citace: Fencel F, Šimková E, Vondrák K, Janda J, Chadimová M, Stejskal J, Seeman T.:  
Recurrence of nephrotic proteinuria in children with focal segmental glomerulosclerosis after  
renal transplantation treated with plasmapheresis and immunoadsorption: case reports.  
Transplant Proc. 2007 Dec;39(10):3488-90**

#### **RECURRENCE OF NEPHROTIC PROTEINURIA IN CHILDREN WITH FOCAL SEGMENTAL GLOMERULOSCLEROSIS AFTER RENAL TRANSPLANTATION TREATED WITH PLASMAPHERESIS AND IMMUNOADSORPTION**

Fencel F, Šimková E, Vondrák K, Janda J, Chadimová M\*, Stejskal J\*, Seeman T

Department of Pediatrics and \*Department of Pathology, University Hospital Motol, Charles  
University in Prague, 2<sup>nd</sup> Medical School, V Úvalu 84, 15006 Prague 5, Czech Republic  
Tel: 00420-224432001, fax: 00420-224432020, e-mail: filipfencel@seznam.cz

This study was supported by grant VZ MZ ČR Nr. 00064203 and VZ MŠMT ČR Nr. 0021620819.

## Introduction

Idiopathic focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) is believed to be caused by a circulating permeability factor that may be produced by cells of the immune system [1]. FSGS is characterized by heavy proteinuria. Without amelioration of proteinuria the prognosis remains poor and FSGS often leads to end-stage renal disease (ESRD) requiring chronic dialysis and renal transplantation. Unfortunately, recurrence of FSGS is common after transplantation (Tx) and has been reported in 30-40% of patients leading often to graft loss [2, 3]. Risk factors for recurrence are lower age at diagnosis of FSGS (<15 years), rapid progression of the disease to ESRD (<3 years) and mesangial proliferation [4]. In the last decade mutations in genes encoding podocyte proteins, such as NPHS2 gene – podocin, have been identified in 6-38% of patients with familial as well as sporadic FSGS and these patients have lower risk of recurrence of FSGS after Tx than patients with idiopathic FSGS [4]. The treatment of recurrence of FSGS is still a matter of debate. High dose steroids, high dose cyclosporine, cyclophosphamide and plasma exchange (PE) are usually used [5]. Supposedly, PE removes the proposed permeability factor. The treatment has to be started early – patients who are treated earlier respond better to therapy [6]. Immunoabsorption (IA) is an alternative plasma treatment for the recurrence of FSGS, being used rarely in comparison to PE [6, 7]. We report on the PE and IA in the treatment of two children with recurrence of nephrotic proteinuria after Tx.

## Case reports

Patient 1 was a 16-year old girl who presented FSGS at the age of 12 (biopsy-proven FSGS, mutation screening for NPHS2 gene negative). She developed ESRD 3 years later and was started with peritoneal dialysis. After 7 months on dialysis she received cadaveric kidney graft and was treated with triple immunosuppression tacrolimus, steroids and mycophenolate mofetil. On the first day after Tx heavy proteinuria was observed (up to 19 g/day on day 3). Immunosuppressive therapy was changed to high dose cyclosporine and plasmapheresis was started on day 4. Altogether 53 PE were performed. Initially, PE were performed with no more than a 2-day interval between PE sessions. After 18 PE sessions partial remission of nephrotic proteinuria was achieved (proteinuria 3.4 g/day) and PE were then stopped. After 2 months a relapse of heavy proteinuria occurred (proteinuria 5.8 g/day). This relapse was successfully treated with 13 PE (no more than a 2-day interval). After achieving partial remission (proteinuria 3.3 g/day), a chronic PE regimen was started (PE once a week), similar to previous observations [8]. The child remained in remission for the next 3 months. During PE 1.1-1.4 plasma volumes (mean  $1.3 \pm 0.1$ ) were changed, albumin with colloids was the replacement solution, no immunoglobulin substitution was given during PE sessions. Seven months after Tx the child was switched from PE to IA because of severe hypoproteinemia. Altogether 38 IA sessions were performed (once a week). After 5 months, a second relapse of heavy proteinuria occurred (proteinuria 5.6 g/day) which was successfully treated with intensified IA regimen (no more than a 2-day interval between sessions for 1 month, proteinuria decreased to 2.4 g/day). During IA 0.9-

2.6 plasma volumes (mean  $1.7\pm 0.4$ ) were processed. The average proteinuria was  $3.5\pm 1.6$  g/day during treatment with PE and  $3.4\pm 1.3$  g/day during treatment with IA. Serum creatinine was  $86\pm 20$   $\mu\text{mol/l}$  during treatment with PE and  $88\pm 18$   $\mu\text{mol/l}$  during treatment with IA. Graft biopsy was performed once because of increased creatinine (4 months after Tx) and showed cyclosporine nephrotoxicity and effacement of the foot processes by electron microscopy but no signs of FSGS. At the present time she is 13 months after transplantation and has an excellent graft function (serum creatinine  $75$   $\mu\text{mol/l}$ ), proteinuria is  $3.0$  g/day and she is treated with chronic IA once a week.

Patient 2 was a 13-year old girl with biopsy proven FSGS since her 9 years. She developed ESRD at the age of 12 and started hemodialysis. Ten months later cadaveric renal Tx was performed. Immunosuppression was tacrolimus, steroids and azathioprine. On the second day after Tx heavy proteinuria was observed ( $14$  g/day). Immunosuppression was changed to high dose cyclosporine, steroids and cyclophosphamide and on day 5 post transplant PE was started. Altogether 39 PE were performed. After the initial 12 sessions (during the first three weeks, no more than a 2-day interval between sessions) the child entered into complete remission (proteinuria  $0.2$  g/day) and was switched to chronic PE regimen (PE once a week for 1 month, than once a month for 1 year). During this time the girl suffered from one relapse of heavy proteinuria ( $2.8$  g/day) that was successfully treated by intensified PE regimen (4 sessions, proteinuria  $0.2$  g/day at the end). During PE  $0.8$ - $1.8$  plasma volumes (mean  $1.3\pm 0.3$ ) were changed. 16 months after transplantation, the girl was switched to IA treatment. Altogether 16 IA were performed (once a month in chronic IA regimen). During this time the girl suffered from one relapse (proteinuria  $1.5$  g/day) that was successfully treated by intensified IA regimen (7 sessions, proteinuria  $0.2$  g/day at the end). During IA  $0.9$ - $2.9$  plasma volumes (mean  $2.0\pm 0.7$ ) were processed. The average proteinuria was  $0.6\pm 0.5$  g/day during treatment with PE and  $0.5\pm 0.4$  g/day during treatment with IA. Serum creatinine was  $126\pm 30$   $\mu\text{mol/l}$  during PE therapy and  $125\pm 15$   $\mu\text{mol/l}$  during IA therapy. Two graft biopsies were performed (2 and 9 weeks after transplantation), the first biopsy showed cyclosporine nephrotoxicity and complete effacement of the foot processes by electron microscopy, the second showed acute rejection (Banff 1b) and the therapy was changed to standard dose cyclosporine and mycophenolate. At the present time the girl is 28 months after Tx, has a good graft function (serum creatinine  $123$   $\mu\text{mol/l}$ ), low proteinuria ( $0.3$  g/day) and she is treated with chronic IA once a month.

The PE was performed with Fresenius Hemo Care Com.Tec, the IA with two Staphylococcal protein A containing cartridges and immunoadsorption monitor Citem 10 Excorim.

## Discussion

The management of recurrence of FSGS after renal Tx is still controversial. Several studies have suggested the efficacy of PE or IA in conjunction with high dose cyclosporine or cyclophosphamide in inducing remission [4-6]. Supposedly, these plasma-treatments lower the serum activity of a factor related to FSGS [5, 7]. Plasmapheresis is a highly effective elimination method.

However, it is a non-specific method with side effects, such as high loss of physiological plasma substances, e.g. plasma proteins [9]. Immunoadsorption seems preferable to PE, since there is no necessity for additional infusions of albumin, plasma or immunoglobulines as in PE [9]. We report two cases of recurrence of nephrotic proteinuria that were successfully treated by intensified immunosuppression and plasma therapy with PE and IA. Both children had idiopathic FSGS and achieved remission with this treatment strategy. One child achieved partial and the second child even complete remission. However, when the plasma therapy was stopped, the first patient went into the relapse that had to be again treated with intensified PE sessions. Therefore, we have put the children on chronic PE treatment regimen that was later changed to chronic IA, similar to previous observations [8]. This treatment strategy was successful in achieving long-term remission of proteinuria. This is only the third report on IA therapy in the management of recurrent nephrotic proteinuria in children with idiopathic FSGS [6, 7].

In conclusion, intensify plasmapheresis or immunoadsorption can induce remission of recurrence of nephrotic proteinuria in children after renal Tx and chronic PE or IA can maintain patients with frequent relapses in a long-term remission.

## References

1. Meyrier A. Mechanisms of disease: focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Clin Pract Nephrol* 1:44, 2005
2. Savin VJ, Sharma R, Sharma M, McCarthy ET, Swan SK, Ellis E, Lovell H, Warady B, Gunwar S, Chonko AM, Artero M, Vincenti F. Circulating factor associated with increased glomerular permeability to albumin in recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med* 334:878, 1996
3. Baum MA. Outcome after renal transplantation for FSGS in children. *Pediatr Transplant* 8:329, 2004
4. Weber S, Tönshoff B. Recurrence of focal segmental glomerulosclerosis in children after renal transplantation: clinical and genetic aspects. *Transplantation* 80:S128, 2005
5. Cochat P, Kassir A, Colon S, Glastre C, Tourniaire B, Parchoux B, Martin X, David L. Recurrent nephrotic syndrome after transplantation: early treatment with plasmapheresis and cyclophosphamide. *Pediatr Nephrol* 7:50, 1993
6. Franke D, Zimmering M, Wolfish N, Ehrich JHH, Filler G. Treatment of FSGS with plasma exchange and immunoadsorption. *Pediatr Nephrol* 14:965, 2000
7. Ponikvar R, Bren A, Kandus A, Ponikvar JB. Treatment of recurrence of FSGS after kidney transplantation with plasma exchange and immunoadsorption. *Transplant Proc* 33:3365, 2001
8. Dantal J, Bigot E, Boger SW: Effect of plasma protein adsorption on protein excretion in kidney-transplant recipients with recurrent nephrotic syndrome. *N Engl J Med* 330:7, 1994
9. Ponikvar R, Ponikvar JB. Side effects of protein A immunoadsorption and plasma exchange in renal allograft recipients. *Transplant Proc* 34:2910, 2002

**PŘÍLOHA 2**

**Citace: Fencel F, Seeman T, Šimková E, Janda J: Plazmaferéza a imunoadsorpce v pediatrii. Čes-Slov Pediat. (2008) 63(3):148-55**

**PLAZMAFERÉZA A IMUNOADSORPCE V PEDIATRII**

MUDr. Filip Fencel, doc. MUDr. Tomáš Seeman, CSc., MUDr. Eva Šimková, prof. MUDr. Jan Janda, CSc.

Pediatrická klinika 2. LF UK v Praze, FN Motol, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5 - Motol

Kontaktní adresa:

MUDr. Filip Fencel

Pediatrická klinika 2. LF UK v Praze, FN Motol, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5 - Motol

tel./fax: 224 432 001 / 224 432 020

e-mail: [filipfencel@seznam.cz](mailto:filipfencel@seznam.cz)

Podpořeno: VZ FNM 00064203/6906

**Klíčová slova**

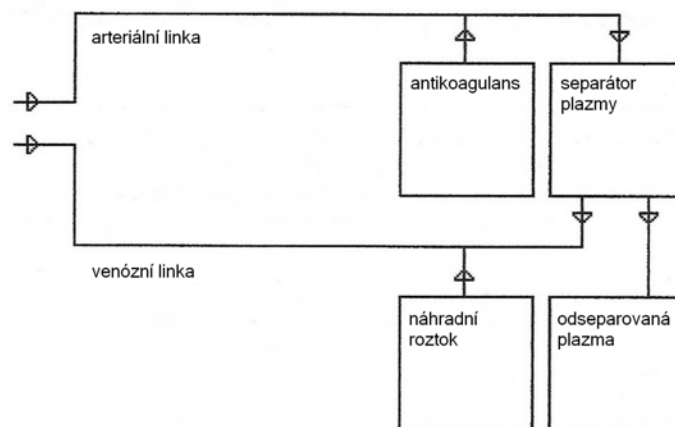
plazmaferéza, imunoadsorpce, děti

## Úvod

Autoři referují o použití 2 eliminačních metod v pediatrii. Zatímco plazmaferéza je uznávanou léčebnou metodou a její použití u dětí se spíše jen upřesňuje, je imunoadsorpce v tomto věkovém období metodou relativně novou. Pro svou přístrojovou a provozní náročnost se řada indikací zatím ještě diskutuje, chybí kontrolované studie prokazující jednoznačně její přednosti a také cost/benefit efekt. Z léčebného hlediska jde ovšem o metodu daleko logičtější než je plazmaferéza, z plazmy se eliminuje skutečně cíleně jen její malá část. Vzhledem k tomu, že speciální přístrojové vybavení pro děti je v ČR dnes již k dispozici, považujeme za přínosné na to pediatrickou veřejnost upozornit.

## Plazmaferéza

Plazmaferéza je eliminační metodou, jejíž podstatou je odstranění plazmy pacienta a její nahrazení náhradními roztoky. Během provádění výkonu je krev vedena tzv. arteriální linkou do separátoru plazmy. Pro cévní přístup se u větších dětí pro centrifugační plazmaferézu obvykle používají žíly na předloktí nebo v kubitální jamce. Neumožňuje-li to stav žilního řečiště, u malých dětí a při membránové plazmaferéze se využívá dvoucestných centrálních žilních katetrů zavedených nejčastěji do v. subclavia nebo v. femoralis. Při nutnosti opakovaných procedur s perspektivou několikaměsíční nebo i delší léčby je možné zřízení arterio-venózních zkratů jako při chronické hemodialýze [1]. Antikoagulace je zajištěna heparinem nebo častěji citrátem, event. i jejich kombinací. Separace plazmy od krevních elementů je umožněna buď centrifugací (separátor plazmy) nebo filtrací (membránová plazmaferéza). Při centrifugaci se oddělují krevní elementy od plazmy na podkladě rozdílné specifické hmotnosti. Filtrace využívá vysoce propustnou membránu s póry o velikosti 0,2-0,4  $\mu\text{m}$  propouštějící i vysokomolekulární proteiny krevní plazmy. Během plazmaferézy je tedy z oběhu odstraněna řada látek – kromě vody a elektrolytů také vysokomolekulární látky jako albumin, globuliny, lipidy, enzymy, léky apod. Odstraněný materiál je shromažďován ve sběrném vaku a nahrazován náhradním roztokem, který je spolu s krevními elementy veden venózní linkou zpět do oběhu pacienta. Jako náhradní roztok se používá buď plazma nebo koloidní roztok albuminu ve směsi s krystaloidy. Schéma technického provedení plazmaferézy je na obr. č. 1.



Obr. č. 1: Schéma plazmaferézy

Pro terapeutickou plazmaferézu je nutné splnění následujících patofyziologických předpokladů:

- a) existence známé nebo předpokládané patologické součásti plazmy způsobující dané onemocnění (například permeability factor u fokálně segmentální glomerulosklerózy, přítomnost inhibitoru koagulačního faktoru u hemofilie, autoprotilátky u autoimunitních onemocnění, toxiny a další),
- b) možnost zbavit organismus nežádoucí látky v takovém rozsahu, že její koncentrace a množství v těle významně poklesne,
- c) plazmatická hladina nežádoucí látky se rychle neobnovuje.

Léčebný efekt plazmaferézy není dán pouze odstraněním patologické substance plazmy, ale také substitucí chybějících fyziologických plazmatických faktorů (například u trombotické trombocytopenické purpury, sepse).

Z výše uvedených podmínek vyplývá okruh onemocnění, pro která lze plazmaferézu léčebně využít - patří sem autoimunitní a metabolické nemoci, některé typy hemolyticko-uremického syndromu, hyperviskózní syndrom, intoxikace apod. V infektologii se plazmaferéza indikuje zejména u akutní polyradikuloneuritidy (syndromu Guillain-Barré) nebo septickém šoku, indikace jsou ale daleko širší, uvedeny jsou v následujícím odstavci.

#### **Indikace k provedení plazmaferézy**

Plazmaferéza byla testována u velkého počtu onemocnění (v současnosti více než sto diagnóz). Indikace plazmaferézy u jednotlivých onemocnění byly rozděleny na základě dosažených terapeutických výsledků do několika kategorií. V současnosti jsou akceptovány směrnice (guidelines) ASFA (American Society for Apheresis). Indikace k provedení plazmaferézy jsou zde děleny do 4 skupin: skupina I – indikace standardní nebo akceptované buď jako primární terapie nebo adjuvantní terapie první linie, skupina II - všeobecně uznávané, ale jako adjuvantní léčba při jiné účinné terapii, skupina III - předpokládaný účinek, benefit nebyl ještě plně prokázán a skupina IV – kontrolované studie nebo jiná pozorování neprokázala efekt nebo nedostatek důkazů. Přehled indikačních skupin a jednotlivých onemocnění je uveden v tab. č. 1, tučným písmem jsou v tabulce zvýrazněny indikace dle AFSA z r. 2000 [2], normálním písmem jsou psány indikace z další literatury [3, 4, 5, 6, 7, 8].



**Tab. č. 1: Indikační skupiny k provedení plazmaferézy:**

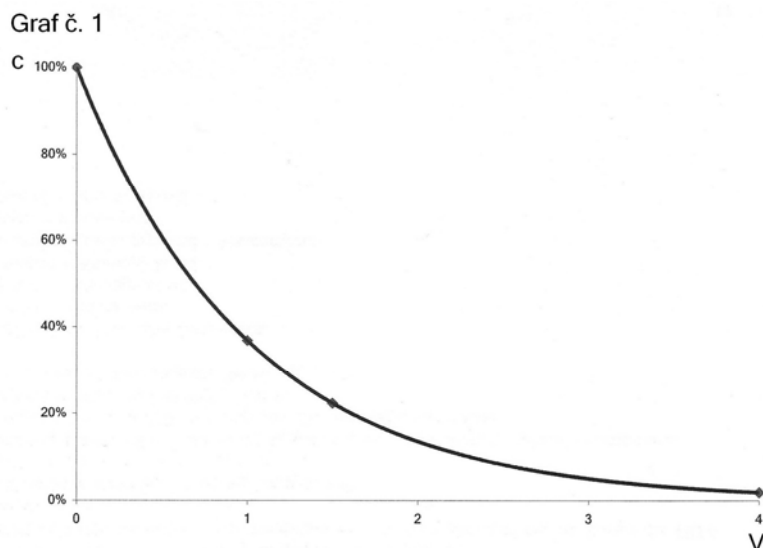
I (standardní nebo akceptované buď jako primární terapie nebo adjuvantní terapie první linie):	<b>akutní a chronické zánětlivé demyelinizační polyneuropatie, posttransfuzní purpura, trombotická trombocytopenická purpura, přítomnost protilátek proti bazální membráně glomerulů, Guillain-Barré syndrom, myastenia gravis</b>
II (všeobecně uznávané, ale jako adjuvantní léčba při jiné účinné terapii):	<b>AB0 inkompatibilita u transplantace kostní dřeně, akutní zánětlivá demyelinizační onemocnění centrálního nervového systému, rychle progredující glomerulonefritida, inhibitory koagulačních faktorů, kryoglobulinémie, kryoglobulinémie s polyneuropatií, familiární hypercholesterolémie, myelom - akutní renální selhání/ paraprotein/ hyperviskozita, předávkování léky a otravy (toxiny vázající se na proteiny), HELLP syndrom (hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet), pemphigus vulgaris</b>
III (předpokládaný účinek, benefit nebyl ještě plně prokázán):	<b>akutní jaterní selhání, aplastická anémie, autoimunitní hemolytická anémie, rejekce po transplantaci srdce, presenzitizace u renální transplantace, hemolytická nemoc u novorozenců, atypický hemolyticko-uremický syndrom, mnohočetný myelom s polyneuropatií, roztroušená skleróza (progresivní/recidivující), paraneoplastické neurologické syndromy, polymyozitida, dermatomyozitida, sklerodermie/progresivní systémová skleróza, systémový lupus erytematosus, vaskulitidy (primární nebo sekundární při revmatoidní artritidě, systémového lupus erytematosus), AB0 inkompatibilita při transplantacích solidních orgánů, popáleninový šok, idiopatická trombocytopenická purpura, thyreotoxikóza</b>
IV (kontrolované studie nebo jiná pozorování neprokázala efekt nebo nedostatek důkazů):	<b>rejekce po transplantaci ledvin, systémová AL (amyloid light) amyloidóza, revmatoidní artritida, amyotrofická laterální skleróza, psoriáza, Henoch-Schönleinova purpura</b>

*Tabulka č. 1: Indikační skupiny k provedení plazmaferézy (tučným písmem jsou v tabulce zvýrazněny indikace dle AFSA z r. 2000, normálním písmem jsou psány indikace z další literatury).*

Naše dialyzační středisko má vlastní zkušenosti s plazmaferézou u desítek pacientů, provádí se zde od roku 1991 [9]. V současnosti jsou nejčastějšími indikacemi atypický hemolyticko-uremický syndrom a trombotická trombocytopenická purpura.

#### **Stanovení počtu a frekvence výkonů**

Množství odebrané plazmy během jednoho výkonu a frekvenci výkonů lze určit na základě výpočtu a předchozích zkušeností s léčbou.



Graf č. 1: Závislost dosažené koncentrace dané komponenty plazmy ( $c$ ) na odstraněném objemu plazmy (násobky objemu plazmy  $V$ )

Na grafu č. 1 je zobrazena závislost dosažené koncentrace dané komponenty plazmy ( $c$ ) na odstraněném objemu plazmy (násobky objemu plazmy  $V$ ) - závislost je exponenciální ( $c = c_0 \times e^{-V}$ ). Odstraněním 1 objemu plazmy je odstraněno přes 60% dané komponenty, při zpracování 1,3 násobku plazmatického objemu je odstraněno přes 72% dané komponenty. V praxi se používá nejčastěji následující schéma pro výpočet objemu vyměněné plazmy během jednoho výkonu a frekvence výkonů [1]:

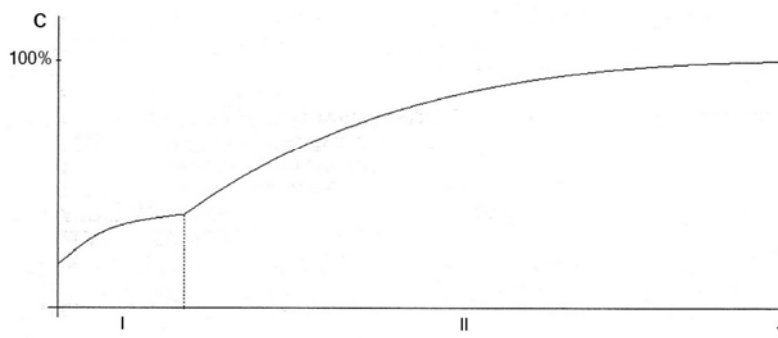
- akutní život/orgán–ohrožující onemocnění: 1,5-2násobek objemu plazmy pacienta, denně do remise onemocnění,
- aktivní onemocnění: 1,3-1,5násobek objemu plazmy, alternativně do remise onemocnění,
- chronické onemocnění: dvakrát týdně až jednou za dva týdny.

Uvedené schéma je však pouze orientační, uvedené parametry jsou vždy individuálně upraveny dle daného onemocnění, klinického stavu pacienta a jeho odezvy na předchozí terapii. Obecně platí, že optimální terapií je minimální možná terapie, která stačí pro dosažení a udržení remise onemocnění.

Vzhledem k neselektivní povaze plazmaferézy dochází tedy při výměně 1 objemu plazmy u dospělého pacienta k odstranění řady normálních substancí: cca 150 g bílkovin (z toho 110 g albuminu, 40 g globulinů), koagulačních faktorů, antitrombinu III, bílkovin tzv. časné reakce, komplementu, hormonů, minerálů, případně léků (např. odstranění antiepileptik) a v malém množství i buněčných krevních složek. Vlastní patologické substance je při její nízké koncentraci odstraněno jen relativně malé množství (řádově gramy) [2, 10, 11]. Ve skutečnosti však mají imunologicky aktivní komponenty odstraňované pomocí plazmaferézy odlišnou dynamiku, která závisí na řadě dalších faktorů. Během výkonu dojde ke snížení koncentrace látky v intravaskulárním prostoru, která následně ovlivní její distribuci mezi intra- a extravaskulárním prostorem. Dále závisí na rychlosti syntézy dané

látky a jejím biologickým poločasem (například IgM se vyskytuje převážně intravaskulárně, poločas 5 dní, IgG má smíšenou distribuci s poločasem 22 dní). Vzhledem k těmto parametrům je pro odstranění dostatečného množství dané komponenty obvykle nutné upravit spíše frekvenci provádění plazmaferéz než objem vyměňované plazmy. Koncentraci látky v plazmě po provedení plazmaferézy popisuje graf č. 2:

Graf č. 2



*Graf č. 2: Závislost koncentrace odstraňované substance v plazmě na čase:*

*I ... zvyšování koncentrace dané látky v plazmě je dáno přesunem z extracelulárního prostoru, tato fáze trvá řádově hodiny*

*II ... zvyšování koncentrace dané látky v plazmě je dáno její novou syntézou, tato fáze probíhá řádově ve dnech*

V případě autoimunitních onemocnění je hlavním cílem plazmaferézy odstranění autoprotilátek. Kromě tohoto základního efektu má plazmaferéza i vliv nespecificky imunomodulační, kdy dochází i k odstranění složek komplementu a cytokinů. Plazmaferézu tedy nelze chápat jako čistě eliminační metodu, ale zároveň také jako nespecifickou modulaci imunokompetentních buněk. Znalosti o těchto mechanismech ovlivnění imunitní reakce organismu však dosud nejsou dostatečné [12, 13, 14]. Odstranění autoprotilátek však není kauzální léčbou - autoantigen i autoreaktivní imunitní buňky v organismu přetrvávají, proto se po provedení plazmaferézy syntéza autoprotilátek urychluje (overshoot fenomén). Nezbytnou součástí léčby je kombinace eliminační metody a podávání imunosupresiv, které tomuto fenoménu brání.

### **Nežádoucí účinky a komplikace plazmaferézy**

Nežádoucí účinky a komplikace plazmaferézy jsou způsobeny zejména extrakorporální cirkulací krve, možností poškození cévní stěny, nutností antikoagulace, objemovou zátěží kardiovaskulárního aparátu, odstraňováním i fyziologických součástí plazmy a rizikem infekcí.

Moderní přístroje umožňují snížit množství extrakorporálně cirkulující krve pod 200 ml (toto množství je u dospělého zanedbatelně malé, u malých dětí zhruba do 20 kg však vyžaduje předplnění systému plazmou nebo jiným náhradním roztokem), ztráty krve jsou rovněž malé (cca 30 ml), množství trombocytů poklesne po výměně plazmy asi o 25-30% [1]. Odstraněním koagulačních faktorů trvá 8-12 hod. po výkonu hypokoagulační stav, poté naopak v důsledku zpožděné syntézy antitrombinu III nastává 24-72 hod. po výkonu hyperkoagulační stav se zvýšeným rizikem trombóz (zejména v kombinaci s dalšími faktory – zánět, imobilizace). Při opakovaných výkonech může

docházet i přes substituci albuminem k hypoproteinémii a hypoalbuminémii, což velmi komplikuje dlouhodobou terapii. Zároveň je také při opakovaných plazmaferézách s náhradou albuminu nutné substituční podávání imunoglobulinů přibližně po každém 5.-7. výkonu.

Nežádoucí účinky a komplikace plazmaferézy jsou shrnuty v tab. č. 2.

---

**Tab. č. 2: Nežádoucí účinky a komplikace plazmaferézy**

---

**Časné reakce:**

Cévní komplikace (včetně komplikací souvisejících s centrálním žilním katetrem):	krvácení, hematomy v místě vpichu perforace velkých žil spasmus cévy trombotizace embolizace vč. vzduchové embolie infekce místa vpichu / katetrová seps
Kardiovaskulární:	přechodná slabost, nauzea, bolest na hrudi hypertenze / hypotenze vazovagální reakce až mdloba objemové přetížení / hypovolémie arytmie
Nežádoucí účinky vyplývající z podání antikoagulačních a náhradních roztoků:	citrátová toxicita (hypokalcémie, parestezie, pocit svalového napětí) plazma - alergické reakce, přenos infekce zvýšená teplota (pyrogeny)
Jiné:	hypokalémie hemolýza symptomy vyplývající z odstranění léku třesavka, teplota, bolest hlavy

**Pozdní reakce:**

krvácení / trombózy  
infekce - bakteriální / virové  
imunologické poruchy - především hypoimmunoglobulinémie  
anémie, trombocytopenie po opakovaných výkonech  
hypoalbuminémie (závažná po opakovaných výkonech)

*Tabulka č. 2: Nežádoucí účinky a komplikace plazmaferézy.*

### **Kontraindikace provedení plazmaferézy**

Kontraindikace provedení plazmaferézy vyplývají z:

- a) extrakorporálního zpracování krve - nestabilní závažné kardiovaskulární choroby jako např. hemodynamická nestabilita při kardiogenním šoku, perikardiální krvácení,
- b) antikoagulace - závažné poruchy hemostázy (je nutné se pokusit o korekci před výkonem),
- c) plazmaferézou navozené imunosuprese – těžká infekční onemocnění,
- d) těžké přidružené choroby (například pokročilá stádia tumorů).

### **Závěr**

Plazmaferéza je vysoce účinnou eliminační metodou, která odstraňuje pacientovu plazmu a nahrazuje ji náhradními roztoky, čímž buď odstraňuje patologické složky pacientovy plazmy, nebo nahrazuje chybějící složku pacientovy plazmy. Nevýhodou je však její nespecificita - spolu s odstraněním dané patologické složky plazmy jsou vedlejším efektem léčby vysoké ztráty fyziologických součástí plazmy i léků. Vyžaduje také použití substitučních roztoků, z čehož vyplývá ekonomická náročnost plazmaferézy (podávání albuminu, plazmy) i riziko nežádoucích účinků (např. alergické, infekční komplikace). Při opakovaném a častém užití plazmaferézy dochází k významné hypoproteinémii a dlouhodobá léčba může být velmi obtížná.

Tyto nevýhody plazmaferézy vedly ke snaze o použití specifitější, či dokonce selektivní metodiky, odstraňující pouze patologické složky plazmy. Mezi částečně selektivní metody je možné počítat například diferenciální (kaskádovou) filtraci, termofiltraci, kryoprecipitaci, lipaferézu, DALI (direct absorption of lipoproteins) a další. Patří sem také imunoadsorpce, která bude podrobněji rozebrána v další části textu.

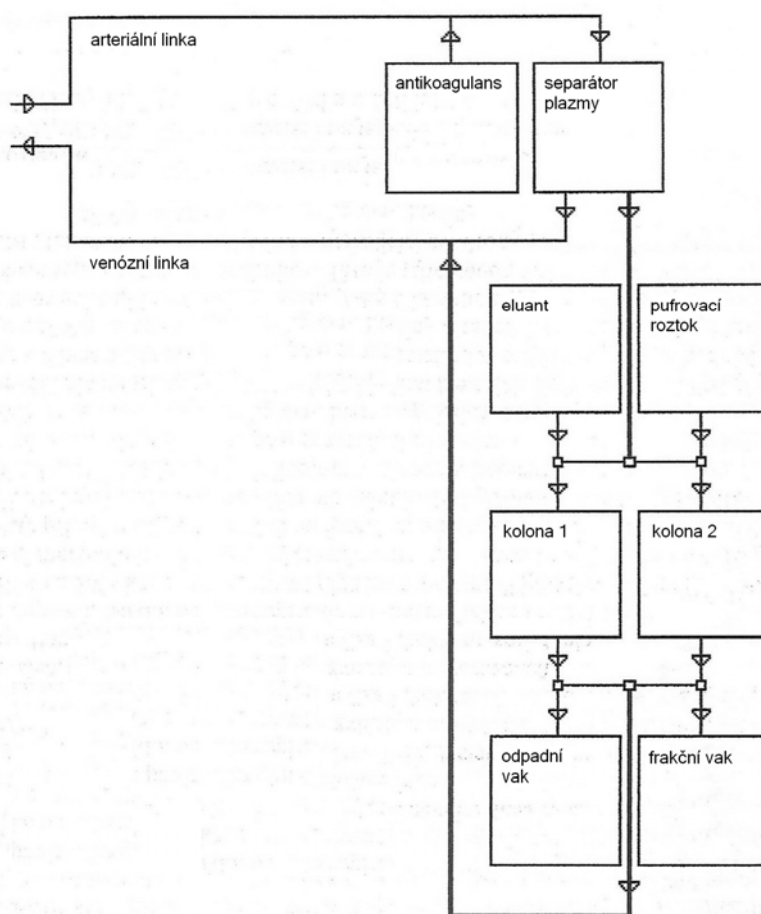
### **Imunoadsorpce**

Imunoadsorpce je metodou, při které je nejdříve odseparována plazma pacienta stejně jako při plazmaferéze a poté je plazma čerpána přes kolonu obsahující adsorbent. Zde je zbavována pouze látek, které se na adsorbent váží. Následně je takto očištěná plazma navrácena zpět do oběhu pacienta. Protože se nejedná o neselektivní odstraňování všech složek plazmy, není zapotřebí používat náhradní roztoky jako u plazmaferézy. Adsorpční metody tedy využívají schopnosti určitých látek vázat selektivně jen některé složky plazmy, převážně imunoglobuliny třídy IgG, IgA, IgM, fragmenty imunoglobulinů a cirkulující imunokomplexy [4, 15, 16, 17, 18]. Kromě vlastního odstranění imunoglobulinů má imunoadsorpce stejně jako plazmaferéza nespecifický imunomodulační vliv na buňky imunitního systému. Byla vyvinuta německým biochemikem Stoffelem r. 1981.

V průběhu výkonu je arteriální linkou odváděna krev pacienta do separátoru plazmy, kde musí být oddělována vysoce čistá plazma (primární okruh). Ta je dále odváděna přes kompenzátor objemu k vlastnímu zpracování do jedné ze dvou imunoadsorpčních kolon (sekundární okruh). Zde probíhá navázání (adsorpce) imunoglobulinů a plazma očištěná od imunoglobulinů se vrací po zpětném smísení s krevními elementy zpět pacientovi. Vazba imunoglobulinů v koloně je reverzibilní, kolona

je vypláchnutím regenerována a připravena k dalšímu použití. Jak bylo uvedeno výše, má zařízení k dispozici 2 totožné imunoabsorpční kolony. V jedné z kolon probíhá adsorpce, druhá je zároveň regenerována. Po každém cyklu a regeneraci kolony je stanovena účinnost procesu. Každý terapeutický výkon se skládá z několika takových cyklů. Možnost opakování výkonu je teoreticky neomezená, v praxi je však limitována garantovanou dobou použitelnosti nebo v případě častého používání postupným snižováním účinnosti kolon. Pro každého pacienta musí být používána dvojice kolon.

Schéma primárního i sekundárního okruhu při imunoabsorpci je zobrazeno na obr. č. 2 (primární okruh je totožný s okruhem pro plazmaferézu). Na obrázku č. 3 je fotografie vlastního imunoabsorpčního přístroje - odpovídá sekundárnímu okruhu na obr. č. 2.



Obr. č. 2: Schéma imunoabsorpce (pozn.: 1. primární okruh je totožný s okruhem pro plazmaferézu, sekundární okruh je znázorněn tlustou čarou; 2. do frakčního vaku je možné odvádět samostatně imunoglobuliny vypláchnuté z imunoabsorpčních kolon k další analýze)



*Obr. č. 3: Fotografie sekundárního okruhu imunoadsorpce*

Během zpracování 1 objemu plazmy dojde k odstranění 50% intravaskulárního IgG. Stejně jako u plazmaferézy je nutné brát v úvahu i extravaskulárně se nacházející imunoglobuliny a výkon opakovat. V takovém případě je možné imunoglobuliny téměř odstranit bez výrazného vlivu na ostatní komponenty plazmy. Z literárních údajů i podle našich zkušeností klesá po výkonech i plazmatická koncentrace ostatních bílkovin, koagulačních faktorů a složek komplementu o cca. 15-20% [11, 17]. Pokles je dán ztrátami během výkonu (ztráty plazmy při regeneraci kolon a výplachu systému) a také částečným naředěním cirkulujícího objemu dalšími roztoky (předplnění soustavy, proplachy). Tyto ztráty jsou však rychle spontánně upraveny bez nutnosti podávat substituční roztoky i při opakovaných výkonech. Počet a frekvence prováděných imunoadsorpcí závisí na typu užití kolony, její aktuální účinnosti, na základním onemocnění i na jeho aktivitě. Obecné principy stanovení počtu a frekvencí výkonů jsou obdobné jako u plazmaferézy. Ve většině indikací je imunoadsorpce kombinována s medikamentózní imunosupresivní terapií, přičemž u řady pacientů umožňuje imunoadsorpce významné snížení počtu či dávek užívaných imunosupresiv.

Podle použitých adsorbentů je možné imunoadsorpční kolony dělit na ireverzibilní a reverzibilní.

Ireverzibilní využívají syntetické pryskyřice složené z nosiče (polyvinylalkohol) a na něj kovalentně navázané aminokyseliny (fenylalanin nebo tryptofan). Proces adsorpce je selektivní - jsou odstraňovány převážně imunoglobuliny (proto byl tento proces nazván imunoadsorpcí). Po vyčerpání vazebné kapacity adsorbentu pro imunoglobuliny je nutno použít novou kolonu s novým adsorbentem.

Výhodou je ekonomická nenáročnost (kolem deseti tisíc korun za kolony), nevýhodou naopak jednorázové použití [19].

Reverzibilní kolony používají v současnosti jeden ze dvou adsorbentů. První využívá schopnosti jedné součásti buněčné membrány bakterie *Staphylococcus aureus* – proteinu A [20]. Ten na sebe váže imunoglobuliny, především IgG, reakce s ostatními plazmatickými proteiny je zanedbatelná. Vazba IgG probíhá pouze na podkladě vysoké afinity k proteinu A, nejedná se o imunologickou interakci, touto metodou je možné odstranit až 87-95% IgG [16, 20]. Reakce probíhá silně s podtřídami IgG1, IgG2, IgG4, zatímco u podtřídy IgG3 a tříd IgA a IgM je slabší. Samotný protein A je proti úniku z kolony do oběhu pacienta vázán na nosič, používána je sepharosa. V průběhu odstranění navázaných imunoglobulinů je využíváno rezistence proteinu A vůči změně pH - kolona je při odstraňování imunoglobulinů proplachována roztokem o nízkém pH, který uvolňuje vazbu Ig na protein A. Nevýhodou této metody je především vysoká jednorázová ekonomická náročnost při pořízení těchto opakovaně použitelných kolon (řádově statisíce Kč za dvojici kolon pro jednoho pacienta), naopak odpadá nutnost používat drahé substituční roztoky jako u plazmaferézy.

Druhý v současnosti používaný reverzibilní imunoadsorpční princip je založen na specifické imunitní reakci antigen – protilátka. Používaným adsorbentem jsou v tomto případě polyklonální ovčí protilátky proti lidským imunoglobulinům [21], které jsou rovněž kovalentně navázané na nosič - sepharosu. Technika vlastního provedení výkonu je podobná jako při použití kolon obsahujícího stafylokokový protein A, používají se také dvě kolony – jedna adsorbuje imunoglobuliny z plazmy, druhá v té době regeneruje. Jako eluant se používá glycin. Rozdílné je naopak spektrum adsorbovaných imunoglobulinů. Zatímco při použití stafylokokového proteinu A je adsorbován především IgG, jsou při použití ovčích protilátek proti lidským Ig adsorbovány všechny podtřídy IgG (IgG1-IgG4) a také třídy IgA a IgM. Stejně jako u proteinu A dochází také k vazbě fragmentů imunoglobulinů a cirkulujících imunokomplexů. Rizikem této metody je naopak možnost alergické reakce na ovčí bílkoviny a rizika vyplývající z přípravy polyklonálních protilátek ze zvířecího materiálu. Pokud je filtr naplněn ovčí protilátkou proti lidskému apoproteinu B, odstraňuje se z plazmy LDL cholesterol a jedná se život zachraňující léčbu v případech těžké (např. homozygotní) hypercholesterolemie. V současnosti jsou však vyvíjeny nové typy imunoadsorpčních kolon.

### **Indikace k provedení imunoadsorpce**

U některých diagnóz je již imunoadsorpce zařazena do podobného indikačního schématu jako u plazmaferézy – do skupiny I patří LDL aferéza u pacientů s familiární hypercholesterolemií, do skupiny II patří idiopatická trombocytopenická purpura a revmatoidní artritida. Protože se však jedná o relativně novou metodu, je v současnosti její indikace u většiny výše jmenovaných onemocnění stále předmětem výzkumu a zároveň se v poslední době stále rozšiřuje spektrum onemocnění, u nichž je imunoadsorpce využívána a zkoušena [4, 22, 23, 24, 25, 26, 27].

Současné hlavní indikace k provedení imunoadsorpce jsou shrnuty v tabulce č. 3.



**Tab. č. 3: Současné hlavní indikační skupiny k provedení imunoadsorpce:**

Autoimunitní onemocnění nebo onemocnění s předpokládaným imunologickým etiologickým podílem:	dilatační kardiomyopatie, pemphigus, hemofilie s inhibitory, trombotická trombocytopenická purpura, hemolyticko-uremický syndrom, Goodpastureův syndrom, rychle progredující glomerulonefritida, rekurentní fokálně glomerulární skleróza, kryoglobulinémie s postižením ledvin, myasthenia gravis, Guillain-Barrého syndrom, systémový lupus erythematosus, Wegenerova granulomatóza, revmatoidní artritida, antifosfolipidový syndrom
Transplantace:	orgánové transplantace s HLA hyperimunizací před vlastní transplantací, akutní humorální rejekce, reakce štěpu proti hostiteli (GvHD)
Metabolismus:	LDL aferéza u pacientů s familiární hypercholesterolémií

*Tabulka č. 3: Současné hlavní indikační skupiny k provedení imunoadsorpce.*

Na našem pracovišti máme zatím vlastní omezené zkušenosti s léčbou pomocí imunoadsorpce u dvou pacientek s rekurencí fokálně segmentální glomerulosklerózy v transplantované ledvině [28].

#### **Nežádoucí účinky a kontraindikace**

Nežádoucí účinky a kontraindikace jsou podobné jako v případě plazmaferézy, odpadají však rizika spojená s odstraňováním fyziologických komponent plazmy a podáváním náhradních roztoků. Riziko aktivace komplementu stafylokokovým proteinem A je při jeho vazbě na nosič a při použití citrátu sodného jako antikoagulačního roztoku minimální, stejně tak i riziko alergické reakce při použití kolon s obsahem ovčích protilátek proti lidským imunoglobulinům.

#### **Závěr**

Závěrem lze shrnout, že léčebná plazmaferéza získala svoje pevné místo v terapii řady chorob (viz. indikace dle ASFA, skupiny I, II), v dalších indikacích je ještě její význam vymezován. Budoucnost však bude pravděpodobně patřit selektivním metodám, které budou moci zachytit z plazmy (nebo dokonce přímo z krve) pouze patogeneticky působící faktor, s minimem vedlejších účinků za ekonomicky přijatelných podmínek.

Imunoadsorpce je semiselektivní eliminační metoda, která umožňuje odstranění patologických humorálních komponent (především autoproti látek) z plazmy bez narušení homeostatických mechanismů. Ve srovnání s klasickou plazmaferézou je efektivita této poměrně nové eliminační metody vyšší a zátěž pro pacienta významně menší. Proto imunoadsorpce nahrazuje v posledních letech v mnoha indikacích klasickou plazmaferézu [28]. Optimalizace terapeutických postupů, sledování efektivity terapie a posouzení vlivu imunoadsorpce u pacientů léčených kombinovanou imunosupresí a sledování vedlejších účinků léčby je otázkou dalšího výzkumu.

Imunoadsorpcie je v České republice používána téměř výhradně u dospělých pacientů, a proto je vhodné při zvážení výhod této metody (především mnohem větší šetrnosti vůči pacientovi) její častější používání i u dětských pacientů.

## Literatura

1. Wayne AS, Fosburg MT. Therapeutic plasma exchange and cytapheresis. In: Nathan DG, Oski FA. Hematology of infancy and childhood. 4th edition, Mexico, W. B. Saunders company, 1993: 1819-1830.
2. McLeod BC. Introduction to the this special issue: Clinical application of therapeutic apheresis. *J. Clin. Apheresis*, 2000, 15: 1-5.
3. Avner ED, Harmon WE, Niaudet P. Pediatric nephrology. 5th edition, Philadelphia, LW&W, 2004.
4. Bosch T, et al. Extracorporeal plasma treatment in primary and recurrent focal segmental glomerular sclerosis: a review. *Ther. Apher.*, 2001 Jun; 5(3): 155-160.
5. Bunchman TE. Plasmapheresis and renal replacement therapy in children. *Curr. Opin. Pediatr.*, 2002 Jun, 14(3): 310-314.
6. Madore F. Plasmapheresis. Technical aspects and indications. *Crit. Care Clin.*, 2002 Apr, 18(2): 375-392.
7. Smith JW. Therapeutic apheresis in the United states: Current indication and direction. *Ther. Apher.*, 1999, 3: 1-3.
8. Hladík M. Volba eliminační metody v intenzivní péči. In: Fedor M, Mínarik M, Kunovský P, et al. Intenzivní péče v pediatrii. Martin, Osveta, 2006:270-282.
9. Kreisinger J, Šimková E, Feber J., et al. Plazmaferéza u dětí – indikace, technika, výsledky. *Čes.-slov. Pediatr.*, 1999, 54 (8): Příloha VI.
10. Pineda A. Selective therapeutic extraction of plasma constituents, revisited. *Transfusion*. 1999, 39: 671-673.
11. Pták J. Imunoadsorpcie – nová možnost léčby autoimunitních onemocnění. *Prakt. lék.*, 2002, 82, No. 6: 336-339.
12. Agishi T. The current status of extracorporeal immunomodulation. *Transfus. Sci.*, 1996, 17: 439-444.
13. Borberg H, Jimenez C, Belák M, et al. Treatment of autoimmune disease by immunomodulation through extracorporeal elimination and intravenous immunoglobulin. *Transfus. Sci.*, 1994, 15: 409-418.
14. Dau PC. The fundamental basis for therapeutic plasmapheresis in autoimmune diseases. *Transfus. Sci.*, 1996, 17: 235-244.
15. Brunkhorst R. Clinical immunoadsorption, Hannover, Germany, 28 February - 1 March 1997. *Nefrol. Dial. Transplant.*, 1998, 13: 222-224.
16. Gjorstrup P, Watt RM. Therapeutic protein A immunoadsorption. A review. *Transfus. Sci.*, 1990, 11: 281-302.
17. Jones FR, Balint JP, Snyder HW. Selective extracorporeal removal of immunoglobulin-G and circulating immune complexes: a review. *Plasma Ther. Transfus. Technol.*, 1986, 7: 333-349.
18. Toepfer M, Sitter T, Burchardi C, et al. Klinische Immunoabsorption. *Dtsch. med. Wschr.*, 1999, 124: 461-465.
19. Takamori M, Ide Y. Specific removal of antiacetylcholine receptor antibodies in patients with myasthenia gravis. *Transfus. Sci.*, 1996, 17: 445-453.
20. Belák M, Borberg H, Jimenez C, et al. Technical and clinical experience with protein A immunoadsorption columns. *Transfus. Sci.*, 1994, 15: 419-422.
21. Matic G, Hofmann D, Winkler R, et al. Removal of immunoglobulin by a protein A versus an antihuman immunoglobulin G-based system: Evaluation of 602 sessions of extracorporeal immunoadsorption. *Artificial Organs*, 2000, 24: 103-107.
22. Moriconi L, et al. Proteinuria in FSGS: role of circulating factors and therapeutic approach. *Ren. Fail.*, 2001 May-Jul, 23(3-4): 533-541.
23. Moriconi L, et al. Apheresis in primary focal segmental glomerulosclerosis of native and transplanted kidneys: a therapeutic protocol. *J. Nephrol.*, 2000 Sep-Oct; 13(5): 347-351.
24. Muller J, Wallukat C, Dandel M, et al. Immunoglobulin adsorption in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation*, 2000, 101: 385-391.
25. Nilsson IM, Berntorp E, Freiburghaus Ch. Treatment of patients with factor VIII and IX inhibitor. *Thrombosis and hemostasis*, 1993, 70: 56-59.
26. Savin, et al. Permeability factors in focal segmental glomerulosclerosis. *Semin. Nephrol.*, 2003 Mar, 23(2): 147-160.
27. Braun N, Kadar JG, Risler T. Therapeutic immunoadsorption – its role in clinical practice. *Transfus. Sci.*, 1998 Mar, 19, Suppl: 65-69.
28. Šimková E, Vondrák K, Vavřinec J, et al. Protein A immunoadsorption in children with posttransplant FSGS recurrence. *Pediatr. Nephrol.*, 2006, 10: 1513.
29. Schneider KM. Plasmapheresis and immunoadsorption: Different techniques and their current role in medical therapy. *Kidney intern.*, 1998, 53, suppl. 64: S61-S65.