

КОНГЕНИТАЛНИ НЕФРОТСКИ СИНДРОМ

Наташа СТАЈИЋ, Јована ПУТНИК, Александра ПАРИПОВИЋ,
Славиша ЂУРИЧИЋ, Радован БОГДАНОВИЋ

Институт за здравствену заштиту мајке и детета Србије „Др Вукан Чупић”, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Конгенитални нефротски синдром се испољава протеинуријом, хипопротеинемијом, едемом и хиперлипидемијом код детета узраста до три месеца. Узроци обољења могу бити генетски условљени, али и секундарне природе. Фински тип је најчешћи наследни облик конгениталног нефротског синдрома, а изазван је мутацијама у гену за нефрин, основни градивни елемент дијафрагме, која прекрива пукотинасту пору између ножица епителних гломеруларних ћелија подоцита.

Приказ болесника Приказан је болесник код којег су се клинички и лабораторијски знаци нефротског синдрома јавили већ првог дана по рођењу. И поред редовне и одговарајуће супституционе, антипротеинуричне и антитромботичне терапије, дошло је до компликација и смрти. Генетском анализом откривена је мутација у гену за нефрин (*614delins2TT*) у хомозиготном облику. Три године касније код мајке детета је у 12. недељи трудноће урађена биопсија хорионских чупица и у добијеном материјалу утврђена хетерозиготност за исту рецесивну мутацију, што је значило да фетус има статус носиоца, али не и оболелог од конгениталног нефротског синдрома. Ово је прва породица у Србији код које је урађена пренатална дијагноза за ову болест.

Закључак Код детета с клиничком сликом нефротског синдрома постављена је молекуларна дијагноза болести – конгенитални нефротски синдром финског типа. Овим приказом истакнут је значај молекуларне дијагнозе болести код индексних болесника за правовремену, брзу и прецизну пренаталну дијагнозу у наредним трудноћама.

Кључне речи: конгенитални нефротски синдром; пренатална дијагноза; нефрин

УВОД

Нефротски синдром је удружена појава обилне протеинурије, хипоалбуминемије, едема и хиперлипидемије [1]. Када се јави у првој години по рођењу, болест је често опасна по живот. Испољавање нефротског синдрома у прва три месеца сврстава га у конгенитални облик, док се јављање поменутих одлика болести од четвртог до дванаестог месеца по рођењу сматра инфантилним обликом. И један и други облик болести сврставају се у посебан ентитет – нефротски синдром у првој години по рођењу, који се, према многим особинама, разликује од облика који се јављају касније у детињству [1, 2].

Досадашњим испитивањима је утврђено да је конгенитални нефротски синдром најчешће генетски условљен (84,8%). Мутације које су најчешће код ових болесника су у генима *NPHS1* (за нефрин), *NPHS2* (за подоцин), *WT1* (за транскрипциони фактор гена који учествују у стварању бубрега и урогениталног тракта) и *LAMB2* (за ламинин). Остали узроци конгениталног нефротског синдрома су најчешће инфективног порекла: конгенитални сифилис, токсоплазмоза, рубеола, хепатитис Б, цитомегаловирусна инфекција и, ређе, инфекција вирусом хумане имунодефицијенције (*HIV*). Мутације у гену за нефрин 1 (*NPHS1*) налазе се само код особа оболелих од конгениталног нефротског синдрома и јављају се код 39,1% болесника [3, 4].

У раду је приказан болесник са потпуном клиничком сликом конгениталног нефротског синдрома финског типа код којег је постављена молекуларно-генетска дијагноза и указано је на значај правовремене

не и прецизне пренаталне дијагнозе. Приказана породица је, колико је нама познато, прва у Србији код које је урађена пренатална молекуларногенетска анализа за конгенитални нефротски синдром.

ПРИКАЗ БОЛЕСНИКА

Приказано је мушко одојче из неконтролисане трудноће, од родитеља који нису у сродству, рођено у 35. гестационој недељи природним путем, са телесном масом од 2.600 грама. Подаци о Апгар скору и одликама постељице су недостајали. Због конвулзија и перинаталне асфиксије, о чему такође није било детаљних података, упућено је у регионалну здравствену установу првог дана по рођењу. При пријему је било бледо, са генерализованим едемима и умереном генерализованом хипотонијом, благо изражених знакова отежаног дисања. Лобања је била уобичајеног облика, обим главе је био 34,5 *cm*, велика фонтанела је била 3×3 *cm* у равни околних коштаных структура, грудни кош је био симетрично покретљив при дисању, а над плућима су се обострано бележили ослабљен дисајни звук и ретки касноинспиријумски пукоти. Налази других параметара су били нормални.

Ексонографским прегледом утврђени су благо увећани бубрези, као и интравентрикуларна хеморагија с последичним интерним хидроцефалусом, што је потврђено и налазом компјутеризоване томографије (*СТ*).

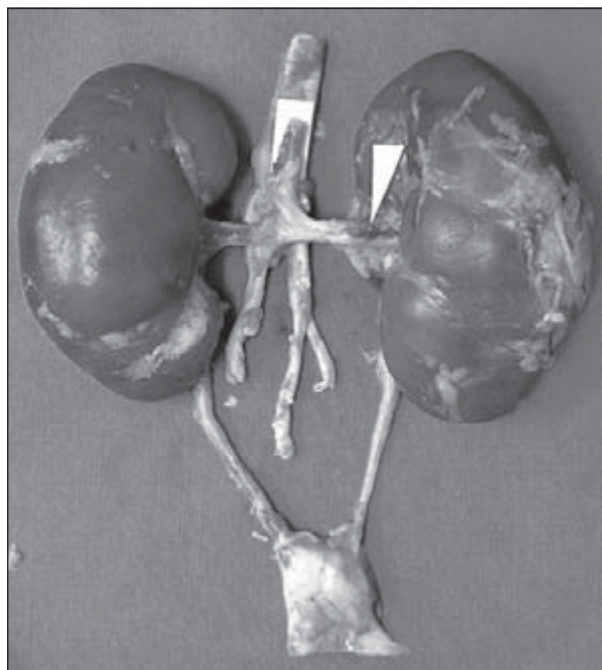
Рутинским прегледом урина установљене су протеинурија (+++) и микроскопска хематурија (10-15

еритроцита), а биохемијским прегледом $6,3 \text{ g/l}$ беланчевина, док је индекс протеини–креатинин био 4200 mg/mmol , тј. протеинурија је била нефротског ранга. У серуму су забележене смањене вредности протеина (28 g/l) и албумина (13 g/l), те повишене вредности холестерола ($9,3 \text{ mmol/l}$), док је општа функција бубрега била очувана (уреа $4,1 \text{ mmol/l}$, креатинин 50 umol/l). У крвној слици, осим благе анемије за узраст (хемоглобин 132 g/l , еритроцити $3,6 \times 10^{12}/\text{l}$), није било других ненормалности. На основу клиничких и лабораторијских налаза постављена је дијагноза нефротског синдрома и започето двонедељно лечење кортикостероидима, које није довело до смањења протеинурије. Такође су примењиване свакодневне инфузије албумина, у два наврата имуноглобулини и трансфузије концентрованих еритроцита.

У узрасту од педесет дана дете је упућено у Институт за здравствену заштиту мајке и детета Србије „Др Вукан Чупић” у Београду. При пријему су уочени благи генерализовани едеми и хипотонија осовине тела, широко отворена велика фонтанела ($3 \times 3 \text{ cm}$), растављене кранијалне сuture и левострана хидроцела, док су други симптоми били клинички неупадљиви.

Бубрези су при ехосонографском прегледу били увећани (по $7,2 \text{ cm}$; нормално је до $5,8 \text{ cm}$), хиперехогени и нејасне кортикомедуларне диферентности. Ултразвучни налаз прегледа централног нервног система (ЦНС) се погоршао и утврђена је прогресија дилатације латералних можданих комора.

Рутинским прегледом урина потврђена је протеинурија (10 g/l), овога пута без микроскопске хематурије, а биохемијским прегледом забележен је нефротски ранг уринарних губитака беланчевина (протеи-



СЛИКА 1. Делимично реканализана тромбоза леве реналне и доње шупље вене (налаз на обдукцији).

FIGURE 1. Partially recanalized thrombosis of the left renal and inferior vena cava (autopsy finding).

ни–креатинин 7600 mg/mmol). Хипопротеинемија (25 g/l) и хипоалбуминемија (11 g/l) су биле изразитије него по рођењу, хиперхолестеролемија се одржавала ($7,4 \text{ mmol/l}$), а анемија погоршала (хемоглобин 72 g/l , еритроцити $2,42 \times 10^{12}/\text{l}$). Општа функција бубрега је била и даље очувана (уреа $1,9 \text{ mmol/l}$, креатинин 20 umol/l).

Примењена су додатна серолошка испитивања, којима нису откривена антитела на цитомегаловирус, рубеолау, токсоплазму, вирус хепатитиса Б и Ц, херпес симплекс вирус и трепонему палидум. Нивои свих имуноглобулина у серуму били су снижени за узраст ($\text{IgA } 0,22 \text{ g/l}$, $\text{IgM } 0,88 \text{ g/l}$, $\text{IgG } 0,8 \text{ g/l}$). Утврђене су повишене вредности тиреостимулишућег хормона (TSH ; 22 mIU/l) и снижене вредности тироксина (T_4 ; мање од 20 nmol/l).

По пријему је настављено лечење свакодневним инфузијама албумина и диуретицима (фуросемид, спиронолактон, хидрохлоротиазид), а уведени су и антипротеинурични лекови (индометацин, каптоприл), антиагрегациона средства (ацетилсалицилна киселина), витамин Д₂ (400 и.ј.), тироксин (25 ug), цинк-сулфат (5 mg) и препарати гвожђа, калцијума (500 mg) и магнезијума (50 mg). Исхрана је примењивана према препорукама за децу с конгениталним нефротским синдромом.

Осмог дана лечења испољили су се знаци системске бактеријске инфекције без изолације узрочника и примењено је лечење амикацином и цефтриаксоном током десет дана. Двадесет осмог дана лечења јавила се макроскопска хематурија праћена хипертензијом и тромбоцитопенијом, те је, због сумње на тромбозу реналне вене, обављен ултразвучни преглед бубрега и уочена разлика у величини и ехогености бубрега (десни 74 mm , леви 88 mm). Током наредне две недеље, до нормализације ултразвучног налаза, болесник је лечен хепарином. Тридесет осмог дана лечења дошло је до изненадног респираторног застоја праћеног слабом циркулацијом, а следећег дана до смрти болесника.

На обдукцији је уочено увећање оба бубрега, нарочито левог, као и делимично реканализана тромбоза леве реналне вене и дела доње шупље вене (Слика 1). Такође су забележени бројна крварења у можданом паренхиму и тежак интерни хидрохематоцефалус. Уочени су и хијалине мембране у алвеолама и крварења у обе надбубрежне жлезде.

Патохистолошким прегледом ткива бубрега добијен је следећи налаз: у супкортикалној регији доминирају гломерули феталног изгледа, а остали гломерули су делимично отворених гломеруларних капилара с наглашеним паријеталним ћелијама Боуманове (Bowman) чауре. На једном гломерулу се уочава капсуларна адхезија. Проксимални тубули су јако дилатирани, од којих два-три имају цистичан изглед, аплатираног су епитела, а поједини показују пенушаву трансформацију епитела. Остали каналићи су одговарајућих особина. Интерстицијум је едематозан, са дискретном, дифузном инфилтрацијом. Крвни судови су без патолошких промена.

Узорци крви одојчета и његових родитеља упућени су на геномску анализу у Медицински центар Универзитета у Мичигену (*University of Michigan Medical Center*) у Ен Арбору (*Ann Arbor*), у Сједињеним Америчким Државама. Директним секвенцирањем свих 29 егзона гена *NPHS1* (за нефрин) установљена је хомозиготна мутација *614del8ins2TT* у егзону 6. У генима *NPHS2* и *WT1* нису нађене мутације. Овим налазом је коначно потврђена дијагноза конгениталног нефротског синдрома финског типа.

Саветовано је да се мајка на почетку следеће трудноће упути у Институт ради пренаталне дијагнозе. Почетком 2008. године мајка нашег болесника, тада у 12. недељи трудноће, примљена је ради биопсије хорионских чупица, а изолована ДНК упућена је на молекуларногенетски преглед. После седам дана добијен је налаз који је показао хетерозиготну мутацију *614del8ins2TT* у егзону 6, те је тиме утврђено да фетус има генотип носиоца рецесивне мутације и да неће оболети од конгениталног нефротског синдрома, па је трудноћа настављена.

ДИСКУСИЈА

Код приказаног болесника дошло је до испољавања потпуне клиничке слике конгениталног нефротског синдрома финског типа. Досад је утврђено више од 100 мутација у гену за нефрин (*NPHS1*), локализованом на 19. хромозому. Најчешће се срећу мутације *Fin-major* (*frame shift*) и *Fin-minor* (*nonsense*), које се наслеђују аутозомно рецесивно. Инциденција мутација у *NPHS1* гену је 1:8.000 живорођених у Финској [1]. Половина свих болесника у свету потиче из Финске, али се болест налази у свим расама и свим етничким групама широм света. Клиничка слика, без обзира на тип мутације, показује мало фенотипске различитости: већина деце је, баш као и приказани болесник, рођена пре времена (80%), телесна маса је између 1.500 и 3.500 грама (средња 2.600 грама), а маса постељице је већа од 25% масе тела на рођењу (до 38%); амнионска течност је обојена меконијумом, али новорођенчад обично нема проблеме са дисајним органима; већ на рођењу могу се уочити генерализовани едеми и дистензија трбуха; такође се налазе умбиликална хернија, широко отворена фонтанела и размакнуте кранијалне сuture; ова новорођенчад нема удружене аномалије; с друге стране, бележе се благи функционални поремећаји попут хипотоније мишића и хипертрофије миокарда. Протеинурија почиње *in utero* и може се открити у првом узорку урина после рођења, тј. у првом дану живота, како је утврђено код приказаног болесника. У првим месецима по рођењу вредности креатинина у серуму су нормалне. Обилна протеинурија (и до 100 g/l) може довести до изражених едема и олигурије ако се не примени супституциона терапија. При ехосонографском прегледу уочавају се велики бубрези са појача-

ном кортикалном ехогеношћу и нејасном кортикоструларном границом, и то тек у узрасту од месеца два [1], што је нађено и код приказаног болесника. Патохистологија бубрега у почетку ни по чему није патогномонична. Типичне лезије могу се видети тек у узрасту од три месеца до осам месеци. Најчешће се јавља експанзија гломеруларног мезангијума изазвана оштећењем подоцита, облитерација гломеруларних капилара, склероза гломерула, интерстицијумска фиброза и дилатација проксималних и дисталних тубула [5], што је опис који одговара налазу и приказаног болесника. Примењено лечење било је у складу с препорукама наведеним у референтним уџбеницима педијатријске нефрологије. Због сталних тешких губитака протеина, врши се супституција применом инфузија двадесетопроцентног албумина у дози 1-5 ml/kg телесне масе, свакодневно током неколико недеља, уз фуросемид у дози од 0,5 mg/kg телесне масе. Оваква примена албумина само привремено коригује хипопротеинемију, али болесници ипак немају значајне едеме [1]. Смањење губитака протеина применом инхибитора ангиотензин-конвертујућег ензима (ACE) [6] и индометацина могућа је углавном код болесника који немају мутације типа стоп-кодона, делеција или тзв. мисенс мутација. Заједно са губитком осталих беланчевина губе се и серумски протеини који везују тироксин, као и сам хормон штитасте жлезде. Вредности *TSH* могу бити нормалне у почетку, али се повећавају већ у првим месецима по рођењу; код приказаног болесника су биле повишене већ крајем другог месеца. Зато се препоручује супституција тироксина дозом 6,25-12,5 ug на дан, која се мења зависно од нивоа *TSH*. Губици протеина урином доводе до поремећаја односа прокоагуланција и антикоагуланција у крви, што води повећаном ризику од тромбозе. Зато је приказани болесник примао ацетилсалицилну киселину, а препоручује се и примена дипиридамола. Уринарни губици гама-глобулина и фактора комплемента (Б и Д) чини болесника с нефротским синдромом склонијем ка бактеријским инфекцијама. Због тога увек треба мислити на бактеријску сепсу, која се често може испољити само знацима локалне инфекције, и применити парентералну антибиотску терапију лековима који покривају већину болничких сојева, што је учињено и код приказаног болесника. Основни принцип исхране одојчади с тешким обликом конгениталног нефротског синдрома јесте висококалорична и високопротеинска исхрана. Укупан дневни енергетски унос треба да достигне 130 kcal/kg телесне масе, унос течности сходно томе 130 ml/kg, а унос протеина не би требао да буде мањи од 3-4 g/kg телесне масе [2].

Редовна надокнада албумина уз диуретике и антипротеинуричне лекове спречавала је појаву значајнијих едема код приказаног болесника. Међутим, инфекција је најмање једном компликовала ток болести, док је треће погоршање, које је прогредирало до леталног исхода, вероватно такође било последица

бактеријске сепсе. Значајног удела у слабости дисајних органа и циркулацији имао је и развој интерног хидроцефалуса, чије је решавање, због сложености основне болести, неурохирург неколико пута одлагао.

Да је ток болест био повољан, била би разматрана нефректомија, која се у неким центрима рутински изводи као унилатералан поступак, којим се смањују губици беланчевина, или билатералан, после којег почиње примена перитонеумске дијализе док дете не достигне телесну масу од 9 kg, када се врши трансплантација бубрега [7].

Пренатална дијагноза у породицама с познатим ризиком за конгенитални нефротски синдром, кад год је то могуће, треба да се заснива на молекуларно-генетској анализи. Резултати се могу добити брзо ако је мутација унапред позната, али ако она није идентификована или нема претходно болесних у породици, пренатална дијагноза је изазов, јер ген *NPHS1* има 29 егзона и потребно је доста времена за њихову анализу [4]. На мутације у гену *NPHS1* се може сумњати ако је ниво алфа-фетопротеина (*AFP*) повишен у амнионској течности и у серуму мајке, посебно ако ултразвучним прегледом нису уочене аномалије ЦНС (доспева „цурењем“ феталних плазма-протеина путем ликвора или протеинуричног урина у амнионску течност, а затим у крвоток мајке). Сматра се да су вредности *AFP* у амнионској течности повећане ако су пет пута веће од просечне вредности. Хетерозиготи за *NPHS1* могу такође да имају пролазно повишен ниво *AFP* (и до 50 пута већи од просечног), па га зато треба више пута понављати током првих 20 недеља гестације, поготову током другог триместра трудноће [1]. У следећој трудноћи мајке приказаног болесника ниво *AFP* у крви је одређиван у 12. недељи гестације и био је у оквирима просечних вредности (3,468 IU/ml).

Приказани болесник је имао све типичне фенотипске одлике с развојем тешких и леталних компликација, с типичним оптичкомикроскопским налазом прегледа ткива бубрега, уз коначну потврду дијагнозе молекуларногенетским методом, што је омогућило успешну, брзу и прецизну пренаталну дијагнозу у наредној трудноћи мајке.

ЗАХВАЛНИЦА

Молекуларногенетску дијагнозу урадио је проф. Фридрих Хилдебранд (*Friedhelm Hildebrandt*) из Медицинског центра Универзитета у Мичигену, у Ен Арбору (САД). Стручни патохистолошки преглед обавила је проф. Јасмина Липковски из Института за патологију Медицинског факултета Универзитета у Београду. Поступак пренаталне дијагнозе изведен је у оквиру Генетског саветовалишта Института за здравствену заштиту мајке и дете Србије „Др Вукан Чупић“, уз учешће др Маје Ђорђевић, др Жарка Пузигаће и др Адријана Сарајлије, и Лабораторије за медицинску генетику исте установе. Геномска анализа је обављена у *Cliniques universitaires Saint-Luc* у Бриселу (Белгија).

НАПОМЕНА

Рад је урађен у оквиру пројекта број 145046 Министарства науке и заштите животне околине Републике Србије.

ЛИТЕРАТУРА

1. Holmberg C, Trygguason K, Kestila MK, et al. Congenital nephrotic syndrome. In: Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, editors. Pediatric Nephrology. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p.503-513.
2. Niaudet P. Genetic forms of nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2004; 19:1313-8.
3. Bogdanović R. Nasledne glomerulske bolesti. In: Bogdanović R, Peco-Antić A, editors. Nasledne bolesti bubrega. Beograd: Elit medica; 2003. p.35-72.
4. Hinkes BG, Vlangos CN, Hildebrandt F, et al. Nephrotic syndrome in the first year of life: two thirds of cases are caused by mutations in 4 genes. *Pediatrics* 2007; 119(4):907-19.
5. Kuusniemi AM, Merenmies J, Landhakkar AT, et al. Glomerular sclerosis in kidneys with congenital nephrotic syndrome (NPHS1). *Kidney international* 2006; 70:1423-31.
6. Seedharan R, Bockenbauer D. Congenital nephrotic syndrome responsive to angiotensin-converting enzyme inhibition. *Nephrol* 2005; 20:1340-2.
7. Laakkonen H, Holtta T, Lonnqvist T, et al. Peritoneal dialysis in children under two years of age. *Nephrol Dial Transplant* 2008 ; 23:1747-53.

CONGENITAL NEPHROTIC SYNDROME

Nataša STAJIĆ, Jovana PUTNIK, Aleksandra PARIPOVIĆ, Slaviša DJURIČIĆ, Radovan BOGDANOVIĆ
Mother and Child Health Institute of Serbia "Dr Vukan Čupić", Belgrade

INTRODUCTION Congenital nephrotic syndrome is usually presented with heavy proteinuria, hypoproteinaemia, oedema and hyperlipidaemia in a child from its birth until the age of 3 months. Aetiology of the disease is mutation in the relevant gene or it develops secondary to various infections. The most common form of congenital nephrotic syndrome is caused by mutation in gene for nephrin, the most important protein of the slit diaphragm.

CASE OUTLINE We present the patient with the clinical and laboratory signs of nephrotic syndrome expressed in the first day of life. Despite the adequate and regular substitution, antiproteinuric and antithrombotic therapy, complications occurred and the patient deceased. Genetic analysis revealed homozygous mutation in gene for nephrin (614del8ins2TT). Three years later, in the patient's mother who was in the 12th week of pregnancy at that time, biopsy of chorionic villi was performed and the foetal genetic material showed heterozygosity for the same recessive mutation which meant that the foetus had the status of a carrier. To the best of our

knowledge, this is the first family in Serbia in which prenatal molecular – genetic testing for the congenital nephrotic syndrome was accomplished.

CONCLUSION We wish to stress the importance of molecular diagnosis in patients with congenital nephrotic syndrome in order to perform early prenatal diagnosis in future pregnancies.

Key words: congenital nephrotic syndrome; prenatal diagnosis; nephrin

Nataša STAJIĆ
Institut za zdravstvenu zaštitu majke i
deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“
Radoja Dakića 8, 11070 Novi Beograd
Tel.: 011 3108 105
Faks: 011 260 6886
E-mail: majkaidete@ptt.yu