

Разнообразие мутаций при поликистозной болезни почек, выявленных методом МПС

Вассерман Н.Н., Поляков А.В.

Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова
115522, г. Москва, ул. Москворечье, д.1

Поликистозная болезнь почек (ПП) является клинически и генетически гетерогенной группой заболеваний, может наследоваться как аутосомно-доминантно (АД), так и аутосомно-рецессивно (АР). К развитию АР ПП приводят мутации в гене *PKHD1*. Большинство мутаций при АД ПП находят в гене *PKD1* (80-85%). Примерно в 15% случаев мутации выявляют в гене *PKD2*. Клиническое и генетическое разнообразие ПП требует поиска мутаций в нескольких генах, поэтому он является трудоемким, дорогостоящим и требует много времени. Метод массового параллельного секвенирования (МПС) позволяет проводить поиск мутаций в нескольких генах одновременно независимо от их размера. Проведен поиск мутаций в 254 семьях с ПП методом МПС с использованием панели, включающей гены *PKHD1*, *PKD1*, *PKD2*, *HNF1B* и *GANAB*. Два варианта в гене *PKHD1* было идентифицировано в 49 семьях (19%), один вариант найден в 9 случаях (3,5%); в гене *PKD1* обнаружено 62 варианта (24,5%), в гене *PKD2* – 6 вариантов (2,5%), в гене *HNF1B* – 9 вариантов (3,5%). В 119 семьях, что составило 47%, мутации найдены не были. У больных из семей с генеалогически установленным АД типом наследования в большинстве случаев (39 из 66; 59%) выявлены варианты в гене *PKD1*, приводящие к ПП. Из 59 изолированных случаев ПП в 17% (10 человек) идентифицированы 2 варианта в гене *PKHD1*, в 20% (12 человек) – в гене *PKD1*. При неизвестном типе наследования (129 случаев) в 29,5% (38 чел.) найдены 2 варианта в гене *PKHD1*, в 8,5% (11 чел.) – в гене *PKD1*, в 3% (4 чел.) – в гене *PKD2*, в 4% (5 чел.) – в гене *HNF1B*. Таким образом, МПС относительно быстро позволяет проводить молекулярно-генетический анализ одновременно в нескольких генах у больных с признаками ПП.

Ключевые слова: аутосомно-рецессивная поликистозная болезнь почек, аутосомно-доминантная поликистозная болезнь почек, ген *PKHD1*, ген *PKD1*, ген *PKD2*, ген *HNF1B*, вариант.

Для цитирования: Вассерман Н.Н., Поляков А.В. Разнообразие мутаций при поликистозной болезни почек, выявленных методом МПС. *Медицинская генетика* 2020; 19(12): 25-37.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.12.25-37

Автор для корреспонденции: Вассерман Наталья Наумовна; e-mail: vasserman@dnalab.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки России для ФГБНУ «МГНЦ».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Поступила: 10.10.2020.

Mutation variability at polycystic kidney disease detected by NGS

Vasserman N.N., Polyakov A.V.

Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechye str. 1, Moscow, 115522, Russia

Polycystic kidney disease is a heterogeneous group of autosomal dominant or autosomal recessive disorders with age of manifestation varying from prenatal period to adulthood. Autosomal recessive polycystic kidney disease is caused by mutations in the *PKHD1* gene. Approximately 85% of all autosomal dominant polycystic kidney disease cases are caused by mutations in the *PKD1* gene, and around 15% – by mutations in the *PKD2* gene. All these genes are large, and mutations were found to be scattered throughout the genes without any clustering. Therefore, mutation detection requires a lot of time, money, and effort. Due to clinical and genetic diversity of polycystic kidney disease, the search for mutations has to be carried out in several genes. Mass parallel sequencing (MPS) allows to analyze several genes simultaneously regardless of their size.

254 families with polycystic kidney disease were examined using mass parallel sequencing with a gene panel that included *PKHD1*, *PKD1*, *PKD2*, *HNF1B* and *GANAB*. Two variants in *PKHD1* were found in 49 families (19%), one variant – in 9 families (3.5%); in *PKD1* 62 variants were detected (24.5%), in *PKD2* – 6 variants (2.5%), in *HNF1B* – 9 variants (3.5%). In 119 families (47%) there were no mutations in the target genes. Among 66 patients from families with autosomal dominant polycystic kidney disease, 39 patients (59%) had mutations in the *PKD1* gene. Out of 59 sporadic cases, 10 patients (17%) had 2 variants in *PKHD1*, 12 patients (20%) – in *PKD1*. 38 patients (29.5%) out of 129 patients with unknown type of inheritance had 2 variants in *PKHD1*, 11 patients (8.5%) – in *PKD1*, 4 patients (3%) – in *PKD2*, 5 patients (4%) – in *HNF1B*. Mass parallel sequencing allows to carry out relatively rapid molecular genetic analysis of several genes simultaneously for patients with symptoms of polycystic kidney disease.

Keywords: autosomal recessive polycystic kidney disease, autosomal dominant polycystic kidney disease, *PKHD1* gene, *PKD1* gene, *PKD2* gene, *HNF1B* gene, mutation.

For citation: Vasserman N.N., Polyakov A.V. Mutation variability at polycystic kidney disease detected by NGS. *Medical genetics*. 2020; 19(12): 25-37. (In Rus.).
DOI: 10.25557/2073-7998.2020.12.25-37

Corresponding author: Vasserman Natalya Naumovna; e-mail: ion10@bk.ru

Funding. The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation for Research Centre for Medical Genetics.

Conflict of interest. Author declare no conflicts of interest.

Accepted: 10.10.2020.

Введение

Поликистозная болезнь почек (ПП) — клинически и генетически гетерогенная группа заболеваний. Признаки заболевания могут появиться как до рождения, так и во взрослом возрасте. ПП может наследоваться как аутосомно-рецессивно (АР), так и аутосомно-доминантно (АД). Описано 6 генетических вариантов ПП (табл. 1).

Аутосомно-рецессивная поликистозная болезнь почек

АР ПП (autosomal recessive polycystic kidney disease, ARPKD, Polycystic kidney disease 4 with or without hepatic disease, MIM 263200) — тяжелая форма ПП с ранним началом, ренально-гепато-панкреатическая дисплазия. Клиническая картина АР ПП может варьировать. Встречается заболевание с частотой 1:20 000 новорожденных [1]. У большинства больных АР ПП выявляется внутриутробно или сразу при рождении. Однако описаны случаи заболевания, когда признаки болезни появляются в детском или взрослом возрасте. Заболевание возникает в результате гиперплазии собирательных протоков и дистальных трубочек почек. Почки увеличены в размерах, микроскопически выявляются множественные мелкие кисты. В большинстве случаев обнаруживаются кисты печени, иногда — кисты легких, селезенки и поджелудочной железы. Заболевание сопровождается изменениями лица (лицо Поттер) и гипоплази-

ей легких. В печени и поджелудочной железе наблюдается фиброз и/или кистозные изменения. В течение первых месяцев жизни у 80% детей развивается артериальная гипертензия. При раннем проявлении АР ПП, в основном, поражаются почки. У больных с поздним началом заболевания преобладает повреждение печени с последующей портальной гипертензией, почки вовлечены в меньшей степени [2].

Диагностическими критериями АР ПП являются клиническая манифестация с характерными изменениями почек, видными при ультразвуковом обследовании, фиброз печени и отсутствие почечных кист у родителей [3]. Для последующей ДНК-диагностики надо проводить дифференциальную диагностику с похожими клиническими состояниями. Наиболее важно отличать АР ПП от АД ПП с ранним началом. ПП с ранним началом и тяжелыми клиническими проявлениями может встречаться у 2% больных с АД ПП [4]. Поэтому при ПП у ребенка надо проводить ультразвуковое исследование почек родителей.

30-50% новорожденных умирают вскоре после рождения от дыхательной недостаточности из-за легочной гипоплазии. Для больных, переживших неонатальный период, прогноз более благоприятный [5], 10- и 20-летний период выживания оценивается в 71% и 42%, соответственно [2]. В связи с высокой смертностью больных актуально проведение пренатальной диагностики.

Таблица 1

Генетические варианты ПП

Тип	MIM	ген	локализация	MIM	Тип наследования
1	173900	<i>PKD1</i>	16p13.3	601313	АД
2	613095	<i>PKD2</i>	4q22.1	173910	АД
3	600666	<i>GANAB</i>	11q12.3	104160	АД
4	263200	<i>PKHD1</i>	6p12.3-p12.2	606702	АР
5	617610	<i>DZIP1L</i>	3q22.3	617570	АР
6	618061	<i>DNAJB11</i>	3q27.3	611341	АД

В 2002 г. двумя независимыми группами был открыт ген *PKHD1* (polycystic kidney and hepatic disease 1, MIM 606702) [6, 7]. Ген локализован на хромосоме 6p12.3-p12.2, включает, по крайней мере, 86 экзонов и имеет протяженность 643 т.п.н. геномной ДНК. Эти экзоны участвуют в образовании различных транскриптов длиной 8,5–13 т.н., синтезирующихся в результате альтернативного сплайсинга. С самого длинного транскрипта, содержащего 67 экзонов, синтезируется белок полидуктин (фиброцистин), состоящий из 4074 аминокислотных остатков и имеющий молекулярную массу 447 kDa. Он представляет собой интегральный мембранный белок, который, возможно, участвует в регуляции пролиферации и адгезии клеток [8].

Мутации в гене *PKHD1* выявлены в различных экзонах без признаков кластеризации. Хотя бы одну мутацию находят более чем в 95% семей с АР ПП [9]. При обнаружении одной мутации диагноз АР ПП становится более вероятным. Однако за мутацию может быть принят функционально незначимый вариант, особенно если это единственное найденное изменение. Около 45% мутаций приводят к образованию преждевременного стоп-кодона и синтезу укороченного белка [10]. Все больные с двумя такими мутациями имеют тяжелые клинические проявления и умирают вскоре после рождения. При наличии миссенс-мутаций в гомозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии больные имеют мягкие клинические проявления и переживают неонатальный период. Таким образом, корреляция генотип-фенотип прослеживается для типа мутации, а не для места изменения в последовательности ДНК.

Кроме точковых мутаций методом количественной полимеразной цепной реакции были выявлены крупные делеции в гене *PKHD1*, затрагивающие один или несколько экзонов [9]. Всего в базе *PKHD1* описано 748 вариантов (www.humgen.rwth-aachen.de). Большинство мутаций являются уникальными. Но миссенс-мутация с.107C>T (p.Thr36Met) в экзоне 3 встречается примерно в 20% мутантных аллелей. Она обнаружена у неродственных больных разного этнического происхождения. Анализ полиморфных маркеров выявил, по крайней мере, 16 различных гаплотипов, сцепленных с этой мутацией, в Германии и Финляндии [10]. Таким образом, мутация p.Thr36Met представляет собой «горячую» точку, а не распространилась в результате эффекта основателя. Мутация p.Thr36Met в сочетании с некоторыми миссенс-мутациями или с мутациями, приводящими к синтезу укороченного белка, часто приводит к тяжелым клиническим проявлениям [2, 3]. Bergmann с соавт. [10] идентифицировали две мутации с.1486C>T (p.Arg496Ter) и с.10412T>G (p.Val3471Gly),

составляющие 60% мутаций среди больных в Финляндии, распространившиеся в результате эффекта основателя. Остальные мутации в основном являются уникальными.

В 2017 г. описан АР ПП 5 типа (Polycystic kidney disease 5, MIM 617610), характеризующийся началом в раннем детстве, большими гиперэхогенными почками, прогрессирующей дисфункцией почек, последняя стадия почечной недостаточности развивается во второй-третьей декаде жизни [11]. К заболеванию приводят мутации в гене *DZIPIL* (MIM 617570). Он кодирует TZ белок (DAZ interacting protein 1-like). При нарушении его функции уменьшается накопление полицистина-1 и полицистина-2 в мембранах, повреждается барьерная функция. Ген *DZIPIL* локализован на хромосоме 3q22.3, имеет протяженность 53 т.п.н., состоит из 16 экзонов, кодирующих 767 аминокислотных остатков. В гене описано 5 мутаций, 4 из которых при АР ПП.

Аутосомно-доминантная поликистозная болезнь почек

АД ПП — наиболее частое опасное для жизни генетическое заболевание, встречающееся с частотой 1:500–1:1000 новорожденных [12]. Примерно 5–10% взрослых, которым необходима пересадка почек, поражены АД ПП. Клинические симптомы обычно появляются во взрослом возрасте, однако у 2–5% больных заболевание манифестирует до 15 лет и даже внутриутробно. При раннем проявлении болезни необходимо обследование родителей для дифференциальной диагностики с АР ПП. Однако некоторые аллели являются гипоморфными, а 15–20% мутаций при АД ПП появляются *de novo* [8]. Кроме того, мутации в обоих генах, приводящих к АД ПП (*PKD1*, *PKD2*), также могут наследоваться по рецессивному типу [12]. Диагноз АД ПП ставится людям в возрасте 15–39 лет при выявлении при ультразвуковом обследовании трех и более кист в одной или обеих почках. Примерно у 60% детей до 5 лет и у 75–80% детей 5–18 лет с подтвержденным молекулярно-генетическими методами диагнозом АД ПП находят почечные кисты при ультразвуковом обследовании. Выявление даже одной кисты у детей позволяет предположить наличие АД ПП, т.к. они очень редки в детском возрасте [12]. Почечные кисты варьируют в размерах. Они могут происходить из всех сегментов нефрона и обычно прогрессивно увеличиваются. Хроническая почечная недостаточность развивается у 50% больных к 60 годам. Последняя стадия почечной недостаточности у больных с мутациями в гене *PKD1* наступает на 20 лет раньше, чем у больных с мутациями в гене *PKD2* (средний возраст 58,1 год против 79,9 лет соответственно). Более тяжелая клини-

ческая картина у больных с мутациями в гене *PKD1* связана с большим количеством кист и их более ранним появлением. Показано, что у больных с мутациями, приводящими к синтезу укороченного белка, последняя стадия почечной недостаточности развивается на 12 лет раньше, чем у больных с другими мутациями (55,6 лет против 67,9) [13]. У 75% больных с АД ПП в возрасте 60 лет имеются кисты в печени. Также могут встречаться кисты в поджелудочной железе, селезенке. У 8% больных с АД ПП имеются аневризмы сосудов головного мозга, а у 25% диагностируют дефекты клапанов сердца, особенно пролапс митрального клапана. Отмечается фенотипическое разнообразие даже у больных из одной семьи, что дает основания предполагать влияние модифицирующих генов, эпигенетических механизмов, факторов окружающей среды на клиническое течение [12].

Большинство больных (80–85%) имеет мутацию в гене *PKD1*, 15–20% – в гене *PKD2* [14]. Мутации в гене *PKD1* приводят к АД ПП тип 1 (Polycystic kidney disease 1 with or without polycystic liver disease, adult type I, MIM 173900). Ген *PKD1* (polycystin 1, MIM 601313) локализован на хромосоме 16p13.3, состоит из 46 экзонов [15]. Он имеет протяженность 50 т.п.н., с которых синтезируется транскрипт мРНК размером 12909 пар нуклеотидов. Большая часть гена *PKD1* (экзоны 1–33) дублирована, имеется 6 псевдогенов, гомология достигает 95%, что усложняет поиск мутаций в гене *PKD1*. Предполагают, что псевдогены могут участвовать в регуляции генной экспрессии [12].

Мутации в гене *PKD2* приводят к АД ПП тип 2 (Polycystic kidney disease 2 with or without polycystic liver disease, MIM 613095). Ген *PKD2* (polycystin 2, MIM 173910) локализован на хромосоме 4q22.1, состоит из 15 экзонов и имеет протяженность 68 т.п.н. [16]. С гена синтезируется транскрипт из 2907 пар нуклеотидов.

Большинство мутаций в генах *PKD1* и *PKD2* являются уникальными. В базе мутаций описано 2323 варианта в гене *PKD1* и 278 вариантов в гене *PKD2* (<http://pkdb.maui.edu/>), из них более 1250 и 200 вариантов соответственно являются патогенными. Патогенные варианты расположены на протяжении обоих генов без признаков кластеризации и «горячих» точек. Около 70% мутаций в гене *PKD1* и 80% мутаций в гене *PKD2* приводят к синтезу укороченного белка и ассоциированы с более тяжелым течением заболевания [8]. Редкие несинонимичные миссенс-варианты в гене *PKD1* могут быть как доброкачественными, так и ассоциироваться с мягким течением болезни или проявлять модифицирующие эффекты («гипоморфные» аллели) [17]. Примерно 4% мутаций составляют крупные делеции.

Белки полицистин-1 и полицистин-2 являются трансмембранными белками, взаимодействующими друг с другом С-концевыми доменами. Полицистин-2 представляет собой катионный канал, вовлеченный в клеточные сигнальные пути. Полицистин-1, формируя комплекс с полицистином-2 и связываясь с еще не идентифицированным лигандом, облегчает изменения конформации полицистина-2, открывая Ca^{2+} канал. Имеются данные функционального и мутационного анализа, позволяющие предположить, что фиброцистин может являться частью полицистинового комплекса [8]. После поиска мутаций в генах *PKD1* и *PKD2* у 6–11% больных с АДПП мутации в этих генах не находят.

Bergmann С с соавт. [18] описаны семьи с тяжелыми случаями ПП у плодов и маленьких детей, у которых были выявлены две мутации в гене *PKD1* или мутация в гене *PKD1* и в транс-положении мутация в гене *HNF1B* или *PKD2* в одной семье. При этом у родителей, носителей мутаций, клиническая картина и ультразвуковые признаки ПП могли отсутствовать. Предполагают, что дополнительные мутации в транс-положении и/или *de novo* ухудшают течение заболевания и приводят к более ранним и тяжелым проявлениям поликистоза почек.

В 2016 г. был описан еще один тип ПП: Polycystic kidney disease 3 with or without polycystic liver disease, adult type III, MIM 600666 [19]. Это АД заболевание, проявляющееся в среднем или позднем возрасте и сопровождающееся наличием почечных кист, часто ассоциированных с кистами печени. Заболевание протекает относительно мягко, почечная недостаточность обычно не наблюдается. К АД ПП 3 типа приводят мутации в гене *GANAB* (MIM 104160), локализованном на хромосоме 11q12.3. У него имеются две изоформы: одна состоит из 25 экзонов, кодирующих 966 аминокислотных остатка, вторая образуется в результате вырезания экзона 6 и имеет 944 аминокислотных остатка. Обе формы приблизительно одинаково экспрессируются в почках и печени. Ген *GANAB* кодирует каталитическую альфа субъединицу глюкозидазы II, некаталитическая бета субъединица кодируется геном *PRKCSH*, мутации в котором обуславливают развитие поликистоза печени. *GANAB* играет роль в созревании полицистина-1 и полицистина-2. Миссенс-мутации в гене *GANAB* приводят к потере ферментативной функции. Всего в гене *GANAB* описано 20 различных вариантов, 12 из которых выявлены при АД ПП.

В 2018 г. Cornec-Le Gall с соавт. [20] описали Polycystic kidney disease 6 with or without polycystic liver disease (MIM 618061). Заболевание наследуется по АД типу и характеризуется образованием многих мелких

кист в почках и прогрессирующей почечной недостаточностью. Последняя стадия почечной недостаточности чаще достигается после 60 лет. У половины больных формируются кисты в печени. К заболеванию приводят мутации в гене *DNAJB11* (MIM 611341), локализованном на хромосоме 3q27.3. Ген состоит из 10 экзонов и кодирует 358 аминокислотных остатка. Белок взаимодействует с белком теплового шока HSPA5 в эндоплазматическом ретикулуме. Анализ клеток с мутантным белком *DNAJB11* показал уменьшение в них зрелого полицистина-1 и увеличение количества полноразмерного незрелого полицистина-1, указывая на нарушение процесса созревания. Также в таких клетках уменьшена мембранная экспрессия полицистина-1, что связано с нарушением процессов переноса. В гене *DNAJB11* описано 6 вариантов, 5 — при АД ПП.

Генокопии

АР ПП и АД ПП имеют много генокопий. Фенотип АД ПП может перекрываться с фенотипами наследственных синдромов, приводящих к раку: синдромом Гиппеля-Линдау, обусловленному мутациями в гене *VHL*, и туберозным склерозом, вызываемым мутациями в генах *TSC1* и *TSC2*. Полицистин-1 и комплекс *TSC1/TSC2* подавляют активность сигнальной сети mTOR, приводя к апоптозу. Показано, что белок туберин (*TSC2*) переносит полицистин-1 к мембране. Пациенты с делецией на хромосоме 16p13, захватывающей гены *TSC2* и *PKD1*, имеют более тяжелое и раннее начало заболевания по сравнению с больными с мутациями только в гене *PKD1* [8].

Еще одним примером генокопий является гломерулоцитоз почек с диабетом (RCAD, renal cysts and diabetes syndrome, MIM 137920). Это АД заболевание, включающее в себя болезнь почек, возникающую в результате нарушенного развития почек, и диабет. Заболевание проявляется почечными кистами, нарушением нефрогенеза, примитивными канальцами, нарушениями в собирающей системе, маленькими почками, может быть одна почка, подковообразная почка. Кроме того у больных могут быть нарушения в половой сфере, эндокринная/экзокринная недостаточность, увеличение печеночных ферментов [8]. К заболеванию приводят мутации в гене hepatocyte nuclear factor-1-beta (*HNF1B*), также известном как transcription factor-2 (*TCF2*) (MIM 189907), расположенном на хромосоме 17q12. Мутации в этом гене приводят к различным фенотипам, многие из которых похожи на фенотипы при других ПП. Как для многих транскрипционных факторов, для *HNF1B* характерны различная пенетрантность и экспрессивность [11]. 30–50% больных имеют мутации *de novo*. Приблизительно у 50% паци-

ентов выявляются крупные делеции, охватывающие до 1,4 млн п.н. геномной ДНК на хромосоме 17q12, включающие ген *HNF1B* и 14 других генов. Мутации в гене *HNF1B* выявляются у плодов с гиперэхогенными почками. У большинства плодов почки нормального размера с кистами в корковом слое и нормальный объем амниотической жидкости. Однако в ряде случаев наблюдаются увеличенные поликистозные почки у плодов и маловодие, что имитирует АР ПП. *HNF1B* участвует в регуляции ряда генов, мутации в которых приводят к ПП, в частности *PKHD1*, *PKD2*, *UMOD*, поэтому фенотип некоторых пациентов похож на фенотип больных с АР ПП и АД ПП [11].

В очень редких случаях ПП могут имитировать мутации в генах, обычно вызывающих более сложные заболевания (нефронофтиз, синдром Жубер, синдром Барде-Бидля, синдром Меккеля) [8]. У некоторых больных с ПП находят мутации в генах, обуславливающих развитие АД поликистозной болезни печени (*ALG8*, *SEC61B*, *SEC63*, *PRKCSH*, *LRP5*) [16].

Таким образом, ПП — генетически гетерогенная группа заболеваний. К ней приводят мутации в нескольких генах. Основные гены, мутации в которых приводят к ПП, имеют значительный размер, что осложняет поиск вариантов методом секвенирования по Сэнгеру. Анализ является дорогостоящим и занимает много времени. Наличие генокопий, схожесть клинической картины различных ПП также затрудняют подтверждение диагноза. Метод массового параллельного секвенирования (МПС) позволяет одновременно проводить поиск мутаций в нескольких генах независимо от их размера. Выявление мутаций подтверждает диагноз ПП у больных молекулярно-генетическими методами. В случае АР ПП при отсутствии материала больного ребенка возможен поиск мутаций у его родителей, и при обнаружении у них мутаций становится возможным проведение пренатальной диагностики. Поэтому МПС является наиболее адекватным методом диагностики ПП.

Материалы и методы

У 298 человек из 254 семей проведен поиск вариантов в генах, приводящих к ПП. В 44 семьях исследовалась ДНК обоих родителей, так как материал больного ребенка для анализа был недоступен. В 66 семьях установлен АД тип наследования, в 59 пробанд являлся единственным больным. В 129 семьях тип наследования не известен. От пробандов и родителей больных детей получено информированное согласие на проведение исследования и обработку результатов.

Поиск вариантов проведен с использованием панели «Polycystic», включающей кодирующие последова-

тельности генов *PKHD1*, *PKD1*, *PKD2*, *HNFB1B*, *GANAB*. Анализ ДНК проведен на секвенаторе нового поколения Ion S5. Для пробоподготовки использована технология ультрамультиплексной ПЦР, сопряженная с последующим секвенированием (AmpliSeq™).

Для названия выявленных вариантов использовалась номенклатура, представленная на сайте <http://varnomen.hgvs.org/recommendations/DNA> версия 19.10.

Обработка данных секвенирования проведена с использованием стандартного автоматизированного алгоритма, предлагаемого ThermoFisherScientific (TorrentSuite™), а также программного обеспечения Gene-Talk.

Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использованы выборки проектов «1000 геномов», ESP6500 и Genome Aggregation Database (gnomAD). Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов использованы база данных OMIM (<http://www.omim.org/>), база данных по патогенным вариантам HGMD® Professional (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>), специализированные базы данных по отдельным заболеваниям (www.humgen.rwth-aachen.de для АР ПП и <http://pkdb.mayo.edu> для АД ПП) и литературные данные.

Оценка клинической значимости (патогенности) выявленных вариантов проводилась на основании российских рекомендаций для интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования [21].

Для валидации выявленных вариантов определение нуклеотидной последовательности проводили на генетическом анализаторе Applied Biosystems согласно протоколу.

Поиск крупных делеций в гене *PKHD1* проводился с использованием набора MRC-Holland SALSA MLPA Probemix P341 PKHD1 mix1 и SALSA MLPA Probemix P341 PKHD1 mix2 согласно протоколу.

Результаты и обсуждение

В связи со схожестью клинической картины и наличием генокопий в панель для поиска мутаций при ПП были включены гены, приводящие к АД ПП (*PKD1*, *PKD2*, *GANAB*), АР ПП (*PKHD1*), а также к гломерулоцитозу почек с диабетом (*HNFB1B*) (панель «Polycystic»). Осложняет проведение исследования наличие 6 псевдогенов с высокой степенью гомологии у гена *PKD1*. Для улучшения специфичности при секвенировании гена *PKD1* синтезировались ампликоны длиной 270 пар нуклеотидов. Однако покрытие гена *PKD1* составило только 81%. Остальная часть гена *PKD1* осталась непокрытой в связи с высокой го-

мологией отдельных участков гена и его псевдогенов и невозможностью выбрать специфичные праймеры. Гены *DZIP1L* и *DNAJB11* не вошли в панель, поскольку их связь с ПП была установлена после формирования панели.

Самый протяженный транскрипт гена *PKHD1*, мутации в котором приводят к АР ПП, состоит из 67 экзонов. Всего в гене *PKHD1* были выявлены 107 различных вариантов: 10 нонсенс-мутаций, 82 миссенс-мутации, 6 мутаций, приводящих к изменению сайта сплайсинга, семь делеций и две дубликации (табл. 2). 24 варианта выявлены впервые (в таблице выделены курсивом жирным шрифтом). Варианты были идентифицированы в 31 экзоне. Чаще всего варианты встретились в экзонах 3, 32, 58 и 61 — на 48 хромосомах (45%). На 24 хромосомах выявлен самый частый описанный в гене *PKHD1* патогенный вариант p.Thr36Met в экзоне 3, что составило 22,5% от идентифицированных мутаций. На шести хромосомах обнаружен описанный нами ранее вариант p.Cys3024Tyr в экзоне 58, у одного человека он встретился в гомозиготном состоянии [22]. Кроме того, были обнаружены повторяющиеся варианты p.Leu2244His на 4 хромосомах, p.Ile222Val, p.Arg2831Lys и p.Arg3482Cys на 3 хромосомах каждый, p.Arg496Ter, p.Arg781Ter и p.Cys2422Gly на 2 хромосомах каждый, а также выявленные впервые варианты p.Trp365Ter и p.Gly2458Arg на 2 хромосомах каждый и p.Gly1749Cys на трех хромосомах. На трех хромосомах идентифицирована делеция c.4890delG. Остальные обнаруженные варианты являются уникальными.

При сравнении с литературными данными [3, 23] (табл. 3) в данном исследовании было выявлено больше миссенс-мутаций (77% против 50% и 64%) и меньше нонсенс-мутаций (9% против 18%), остальные типы мутаций встретились примерно с такой же частотой, как и в других выборках.

Всего в гене *PKHD1* согласно критериям патогенности [21] выявлено 64 патогенных варианта, 24 вероятно патогенных и 19 вариантов с неопределенной клинической значимостью. У девяти человек, обследованных методом МПС с использованием панели генов, был выявлен только один вариант в гене *PKHD1*, 8 из них был проведен поиск крупных делеций методом количественной лигазной реакции с использованием набора MRC-Holland. У одного человека была выявлена делеция экзонов 15-16. Делеции в гене *PKHD1* редки, они встречаются с частотой около 2% [23]. В остальных семьях с одним патогенным вариантом второй вариант, возможно, находится в регуляторных областях, в других экзонах, не входящих в самую протяженную открытую рамку считывания.

Таблица 2

Варианты последовательности ДНК, выявленные в гене *PKHD1*

Экзон / интрон	кДНК	эффект	патогенность	число хромосом
Ген <i>PKHD1</i>				
3	c.107C>T	p.Thr36Met	П	24
8	c.561G>A	p.Trp187Ter	П	1
8 интрон	c.602+5G>A	сплайсинг	НЗ	1
9	c.664A>G	p.Ile222Val	НЗ	3
10	c.682A>G	p.Ser228Gly	ВП	1
14	c.1094G>A	p.Trp365Ter	П	2
15	c.1169T>C	p.Phe390Ser	НЗ	1
16	c.1486C>T	p.Arg496Ter	П	2
22	c.2147A>G	p.Gln716Arg	НЗ	1
22	c.2279G>A	p.Arg760His	НЗ	1
23	c.2341C>T	p.Arg781Ter	П	2
25	c.2638 C>T	p.Arg880Cys	П	1
27	c.2855G>A	p.Gly952Glu	П	1
27	c.2912G>T	p.Cys971Phe	П	1
29 интрон	c.3364+1G>A	сплайсинг	П	1
31 инт	c.3628+5G>C	сплайсинг	НЗ	1
32	c.3797delC	p.Pro1266Glnfs*37	ВП	1
32	c.4091A>G	p.Tyr1364Cys	НЗ	1
32	c.4199C>T	p.Ser1400Leu	ВП	1
32	c.4870C>T	p.Arg1624Trp	П	1
32	c.4890delG	p.Asn1631Metfs*8	П	3
32	c.4948A>T	p.Ile1650Phe	ВП	1
33	c.5245G>T	p.Gly1749Cys	НЗ	3
33	c.5312dupG	p.Ala1772Cysfs*8	П	1
34	c.5498C>T	p.Ser1833Leu	П	1
34	c.5513A>G	p.Tyr1838Cys	П	1
36	c.5768A>T	p.Gln1923Leu	П	1
36	c.5895dupA	p.Leu1966Thrfs*4	П	1
38	c.6235A>C	p.Ile2079Leu	НЗ	1
40	c.6537delA	p.Ser2180Profs*8	П	1
41	c.6731T>A	p.Leu2244His	ВП	4
43	c.6992T>A	p.Ile2331Lys	П	1
44	c.7019G>A	p.Gly2340Asp	П	1
44	c.7067C>T	p.Pro2356Leu	НЗ	1
46	c.7264T>G	p.Cys2422Gly	НЗ	2
47	c.7372G>A	p.Gly2458Arg	ВП	2
48 интрон	c.7734-1G>C	сплайсинг	П	1
50	c.7973T>A	p.Leu2658Ter	П	1
50	c.8068T>C	p.Trp2690Arg	П	1
53	c.8366T>C	p.Leu2789Ser	ВП	1
53	c.8411T>A	p.Met2804Lys	П	1
54	c.8492G>A	p.Arg2831Lys	ВП	3
54	c.8552T>C	p.Ile2851Thr	ВП	1
57	c.8852_8859del	p.Gly2951Aspfs*9	П	1
57	c.8864A>G	p.Arg2955Gln	ВП	1
57	c.8870T>C	p.Ile2957Thr	П	1
57	c.8894G>A	p.Cys2965Tyr	НЗ	1
58	c.8989G>A	p.Gly2997Arg	ВП	1
58	c.9071G>A	p.Cys3024Tyr	ВП	6
58	c.9370C>T	p.His3124Tyr	П	1
58	c.9524A>G	p.Asn3175Ser	П	1
58	c.9731T>G	p.Leu3244Arg	ВП	1
58 интрон	c.9830-1G>A	сплайсинг	П	1
59	c.9866G>T	p.Ser3289Ile	НЗ	1
61	c.10444C>T	p.Arg3482Cys	П	3
61	c.10585_10588del	p.Glu3529Leufs*38	П	1
61	c.10619A>G	p.Asp3540Gly	НЗ	1
61	c.11089C>T	p.Gln3697Ter	П	1
62	c.11310G>C	p.Gln3770His	П	1
62 интрон	c.11310+4A>T	сплайсинг	П	1
63	c.11314C>T	p.Arg3772Ter	П	1

Примечание: П – патогенный вариант, ВП – вероятно патогенный вариант, НЗ – вариант с неопределенной клинической значимостью (НЗ).

Также не исключается возможность носительства мутации в гене *PKHD1* и нахождения патогенного варианта, приводящего к ПП в других генах.

Самой частой причиной АД ПП являются мутации в гене *PKD1*, они встречаются в 80–85% случаев. В гене *PKD1* было выявлено 62 варианта: 10 нонсенс-мутаций, 24 миссенс-мутации, две мутации сайта сплайсинга, 22 делеции, три из которых затрагивают также сайт сплайсинга, и четыре дубликации, одна из которых приводит к замене кодирующего триплета на стоп-кодон (табл. 4). Впервые выявлено 28 замен (в таблице выделены курсивом жирным шрифтом). Патогенный вариант p.Arg1672Glyfs*98 встретился у трех неродственных больных, все остальные идентифицированные варианты являются уникальными. Всего выявлено 35 патогенных, 2 вероятно патогенных варианта и 25 вариантов с неопределенной клинической значимостью.

В другом гене, мутации в котором ведут к развитию АД ПП, *PKD2*, идентифицировано 5 патогенных вариантов и один НЗ вариант, выявленный в данном исследовании впервые. Также впервые обнаружена делеция одного нуклеотида. Среди выявленных вариантов одна нонсенс-мутация, две миссенс-мутации и три делеции, одна из которых приводит к изменению сайта сплайсинга (табл. 4).

В разных популяциях соотношение типов выявленных в гене *PKD1* вариантов отличается [24,25] (табл. 5). У пациентов с АД ПП из Франции преобладают делеции/дубликации и нонсенс-мутации (38% и 25% соответственно) [24]. В Италии в половине случаев встречаются миссенс-мутации (49,5%), в 21% к заболеванию приводят делеции/дубликации [25]. В выборке, исследованной в данной работе, наиболее часто к АД ПП приводят делеции/дубликации (42%) и миссенс-мутации (39%).

В гене *HNFB*, приводящем к гломерулоцитозу почек с диабетом, выявлено 9 вариантов, 7 из которых яв-

ляются неописанными (табл. 4). Среди них два нонсенс-варианта, два миссенс-варианта, одна мутация сайта сплайсинга и 4 делеции, две из которых затрагивают сайт сплайсинга. Восемь вариантов являются патогенными и один вариант с неопределенной клинической значимостью.

В 66 семьях с установленным при анализе родословных АД типом у 39 пробандов была найдена мутация в гене *PKD1*, что составило 59%, у двоих пациентов мутация обнаружена в гене *PKD2* (3%), у одного — в гене *HNFB* (1,5%), у 23 человек (35%) мутации выявлены не были. У них возможны мутации в непокрытых фрагментах гена *PKD1*, не исключается наличие крупных делеций/дубликаций. В гене *HNFB* крупные делеции находят в 50% случаев. Также возможно носительство мутаций в других генах, приводящих к ПП, не вошедших в панель МПС, или в еще не идентифицированных генах.

В одной семье с ПП у пробанда у матери были выявлены кисты в печени, а у отца в почках. Однако мутации у пробанда обнаружены в гене *PKHD1*, ответственном за развитие АР ПП. К сожалению, материала родителей не было, возможно у них кроме носительства мутации в гене *PKHD1* есть мутации в генах, приводящих к АД ПП и поликистозу печени.

В 59 семьях, где пробанд являлся единственным больным, в 10 случаях было найдено две мутации в гене *PKHD1*, т.е. в 17%. У двух больных обнаружена только одна мутация в гене *PKHD1*, не исключается наличие крупной делеции на гомологичной хромосоме или мутации в регуляторных областях или в других альтернативных экзонах. Также возможная причина заболевания у этих больных может быть в других генах, а найденная мутация указывает на случайное носительство в гене *PKHD1*. Также в 12 случаях была найдена мутация в гене *PKD1* (20%), в трех — в гене *HNFB* (5%). У 32 пробандов (55%) варианты при исследовании ДНК-панелью генов выявлены не были. У них

Таблица 3

Типы мутаций в гене *PKHD1*

Тип мутации	число (доля) хромосом с мутациями (данное исследование)	число (доля) хромосом с мутациями по данным литературы	
		[3]	[23]
нонсенс-мутации	10 (9%)	5 (18%)	35 (18%)
миссенс-мутации	82 (77%)	14 (50%)	123 (64%)
Сплайсинг	6 (5,5%)	—	9 (5%)
Делеции	7 (6,5%)	7 (25%)	16 (8%)
Дубликации	2 (2,0%)	2 (7%)	10 (5%)
всего хромосом	107	28	193

Таблица 4

Варианты последовательности ДНК, выявленные в генах *PKD1*, *PKD2*, *HNF1B*, *GANAB*

Экзон / интрон	кДНК	эффект	патогенность
Ген <i>PKD1</i>			
3	c.348_352del	p.Asn116Lysfs*2	П
6	c.1295C>T	p.Ala432Val	НЗ
9	c.1736C>T	p.Pro579Leu	НЗ
11	c.2838delG	p.Gln947Argfs*4	П
14	c.3170T>C	p.Phe1057Ser	НЗ
15	c.3520C>T	p.Gln1174Ter	П
15	c.4349_4351del	p.Asn1450del	НЗ
15	c.4357delG	p.Ala1453Leufs*81	П
15	c.4603C>T	p.Arg1535Cys	НЗ
15	c.4746G>C	p.Trp1582Cys	НЗ
15	c.4797C>A	p.Tyr1599Ter	П
15	c.4828_4830del	p.Ile1610del	НЗ
15	c.4837G>C	p.Ala1613Pro	НЗ
15	c.5014_5015delAG	p.Arg1672Glyfs*98	П
15	c.5079C>A	p.Tyr1693Ter	П
15	c.5104A>G	p.Met1702Val	НЗ
15	c.5413dupC	p.Leu1805Profs*185	П
15	c.5552_5553delAT	p.His1851Argfs*138	П
15	c.5824delC	p.Arg1942Alafs*7	П
15	c.5836delC	p.His1946Thrfs*3	П
15	c.6223C>T	p.Arg2075Cys	НЗ
15	c.6487C>T	p.Arg2163Ter	П
15	c.6657_6671del15	p.Arg2220_Pro2224del	НЗ
15	c.6760G>T	p.Glu2254Ter	П
17	c.7105G>T	p.Glu2369Ter	П
21 интрон	c.8017-2_-1delAG	сплайсинг	П
23	c.8258A>G	p.Tyr2753Cys	НЗ
23	c.8302G>A	p.Val2768Met	НЗ
23	c.8327T>A	p.Leu2776Gln	НЗ
23	c.8363C>G	p.Ser2788Trp	П
24	c.8819C>T	p.Pro2940Leu	НЗ
27	c.9404C>T	p.Thr3135Met	ВП
27	c.9428dupA	p.Tyr3143Ter	П
27	c.9547C>T	p.Arg3183Ter	П
27 интрон	c.9569-2A>G	сплайсинг	П
28	c.9588_9589delCC	p.Leu3197Alafs*20	П
28	c.9710delC	p.Ala3237Glyfs*79	П
29	c.9914_9915delCT	p.Ser3305Cysfs*84	П

Продолжение табл. 4 см. на стр. 34.

Экзон / интрон	кДНК	эффект	патогенность
30	c.10043G>A	p.Arg3348Gln	НЗ
36 интр	<i>c.10821+4_10821+5delAG</i>	сплайсинг	НЗ
37	<i>c.10829T>G</i>	<i>p.Leu3610Arg</i>	НЗ
37	<i>c.10937T>A</i>	<i>p.Val3646Glu</i>	ВП
37	c.10943C>T	p.Pro3648Leu	НЗ
37	c.10966delC	p.Leu3656Trpfs*28	П
37 интрон	c.11017-10C>A	сплайсинг	П
38	<i>c.11036T>G</i>	<i>p.Leu3679Arg</i>	НЗ
39	c.11202C>A	p.Tyr3734Ter	П
40	c.11379del G	p.Thr3794Argfs*32	П
40	c.11384G>A	p.Trp3795Ter	П
40	<i>c.11390A>C</i>	<i>p.Tyr3797Ser</i>	НЗ
40	<i>c.11399C>T</i>	<i>p.Pro3800Leu</i>	НЗ
41	<i>c.11531A>T</i>	<i>p.Asp3844Val</i>	НЗ
42	<i>c.11594C>G</i>	<i>p.Ala3865Gly</i>	НЗ
44	c.12010C>T	p.Gln4004Ter	П
44	<i>c.12058delT</i>	<i>p.Cys4020Alafs*19</i>	П
44 экзон-интрон	<i>c.12130_12138+52del61</i>	сплайсинг	П
45	<i>c.12217dupA</i>	<i>p.Thr4073Asnfs*84</i>	П
45	<i>c.12261_12264del</i>	<i>p.Cys4087Trpfs*110</i>	П
46	c.12461G>C	p.Arg4154Pro	НЗ
46	c.12503dupG	p.Ser4169Leufs*41	П
Ген <i>PKD2</i>			
4	c.965G>A	p.Arg322Gln	П
4	c.1081C>T	p.Arg361Ter	П
9 интрон	c.2020-2_1delAG	сплайсинг	П
10	<i>c.2050T>G</i>	<i>p.Tyr684Asp</i>	НЗ
10	c.2101_2102delTC	p.Ser701Argfs*9	П
12	<i>c.2347delG</i>	<i>p.Glu783Argfs*18</i>	П
Ген <i>HNF1B</i>			
1	<i>c.255delC</i>	<i>p.Tyr86Metfs*39</i>	П
1	<i>c.163G>T</i>	<i>p.Glu55Ter</i>	П
2 экзон-интр	<i>c.542_544+16del19</i>	сплайсинг	П
2 интрон	c.544+1g>a	сплайсинг	П
4	c.884G>A	p.Arg295His	П
4	<i>c.1017delC</i>	<i>p.Ser340Alafs*36</i>	П
6 экзон-интр	<i>c.1334_1339+17del23</i>	сплайсинг	П
7	<i>c.1365T>G</i>	<i>p.Ser455Arg</i>	НЗ
8	<i>c.1566T>A</i>	<i>p.Tyr522Ter</i>	П
Ген <i>GANAB</i>			
21	<i>c.2398G>A</i>	<i>p.Asp800Asn</i>	НЗ

Примечание: П – патогенный вариант, ВП – вероятно патогенный вариант, НЗ – вариант с неопределенной клинической значимостью.

возможны мутации в непокрытых фрагментах генов, в регуляторных областях, не исключается носительство крупных делеций или дупликаций, а также наличие мутаций в генах, не вошедших в панель МПС. Также поликистоз может иметь ненаследственную природу.

В 44 семьях без пробанда две мутации в гене *PKHD1* были выявлены в 18 случаях, в четырех семьях найдена одна мутация. В двух случаях патогенные варианты были найдены у одного из родителей в гене *HNF1B*, ответственном за развитие гломерулореноптоза почек с диабетом.

В 20 семьях мутации в генах, входящих в панель МПС, так и не были найдены. В семьях без мутаций нельзя исключить возникновение мутации *de novo* у больного ребенка, и отсутствие его материала затрудняет диагностику ПП. Так в двух семьях, где пробанд являлся единственным больным, были найдены патогенные варианты — делеция/дупликация одного нуклеотида, приводящие к сдвигу рамки считывания с образованием преждевременного стоп-кодона, в гене *PKD1*. У родителей данные варианты отсутствовали. К сожалению, в других семьях, в которых были найдены изменения в генах, приводящие к возникновению АД ПП, а больной был единственным, материал родителей был не доступен. Что не позволило установить происхождение вариантов.

В одной семье с АД типом наследования, где кроме пробанда ПП клинически установлен у матери и брата, при поиске мутаций панелью генов были выявлены две неописанные миссенс-замены. Один вариант в экзоне 15 гена *PKD1* — с.4746G>C — приводит к миссенс-замене p.Trp1582Cys. Согласно программам предсказания патогенности данный вариант следует рассматривать как патогенный. В базе данных по патогенным вариантам HGMD® Professional описан вариант замены того же нуклеотида с.4746G>A, приводящий к образованию преждевременного стоп-кодона p.Trp1582Ter.

Кроме того в одной статье описан как патогенный вариант с.4745G>C, приводящий к миссенс-замене этого аминокислотного остатка p.Trp1582Ser. Таким образом, данный вариант следует считать вариантом с неопределенной клинической значимостью. Однако у этого же больного был найден еще один вариант с.2398G>A, приводящий к миссенс-замене Asp800Asn в экзоне 21 гена *GANAB*. Алгоритм предсказания патогенности PolyPhen-2 расценивает данный вариант как доброкачественный, остальные программы относят его к патогенным. Мутации в гене *GANAB* приводят к АД ПП 3 типа. Поэтому нельзя исключить, что данный вариант тоже может приводить к ПП. Для установления причины ПП в данной семье необходимо исследовать ДНК матери и брата пробанда на наличие выявленных у пробанда вариантов в генах *PKD1* и *GANAB*, но, к сожалению, их материал пока не доступен.

В 254 семьях, в которых проводился поиск мутаций панелью генов методом МПС, были идентифицированы: в гене *PKHD1* в 49 семьях две мутации, что составило 19%, одна мутация найдена в 9 случаях (3,5%); в гене *PKD1* мутации обнаружены в 62 семьях (24,5%), в гене *PKD2* — в 6 семьях (2,5%) и в гене *HNF1B* — в 9 семьях (3,5%). В 119 семьях (47%) мутации найдены не были (табл. 6).

Заключение

Таким образом, выявление мутаций позволило подтвердить диагноз ПП. Методом МПС поиск мутаций возможен одновременно в нескольких генах, ответственных за развитие ПП, что ускоряет диагностику. При отсутствии материала пробанда поиск мутаций возможен у его родителей, однако если в семье был единственный больной, у его родителей можно не найти изменения нуклеотидной последовательности, если у пробанда мутация возникла *de novo*. При подтверж-

Таблица 6

Распределение причины заболевания в семьях по генам, ответственным за ПП

Ген / тип наследования	АДПП	Единственный больной	Тип наследования не известен	Всего
<i>PKHD1</i> 2 мутации	1 (1,5%)	10 (17%)	38 (29,5%)	49 (19%)
<i>PKHD1</i> 1 мутация	—	2 (3%)	7 (5,5%)	9 (3,5%)
<i>PKD1</i>	39 (59%)	12 (20%)	11 (8,5%)	62 (24,5%)
<i>PKD2</i>	2 (3%)	—	4 (3%)	6 (2,5%)
<i>HNF1B</i>	1 (1,5%)	3 (5%)	5 (4%)	9 (3,5%)
без мутаций	23 (35%)	32 (55%)	64 (49,5%)	119 (47%)
Всего	66	59	129	254

дении диагноза в дальнейшем в семье возможно проведение диагностики носительства у родственников, а, в случае необходимости, и проведение пренатальной диагностики.

Литература

- Zerres K., Rudnic-Schoneborn S., Steinkamm C. et al. Autosomal recessive polycystic kidney disease. *J.Mol.Med.* 1998; 76(5):303-309.
- Bergmann C., Senderek J., Windelen E. et al. Clinical consequences of PKHD1 mutations in 164 patients with autosomal-recessive polycystic kidney disease (ARPKD). *Kidney Int.* 2005;67(3):829-848. DOI: 10.1111/j.1523-1755.2005.00148.
- Obeidova L., Seeman T., Elisakova V. et al. Molecular genetic analysis of PKHD1 by next-generation sequencing in Czech families with autosomal recessive polycystic kidney disease. *BMC Medical Genetics.* 2015;16:116. DOI: 10.1186/s12881-015-0261-3.
- Bergmann C., von Bothmer J., Bruchle N.O. et al. Mutations in multiple PKD genes may explain early and severe polycystic kidney disease. *J.Am.Soc.Nephrol.* 2011;22(11):2047-2056. DOI: 10.1681/ASN.2010101080.
- Roy S., Dillon M.J., Trompeter R.S., Barratt T.M. Autosomal recessive polycystic kidney disease: long-term outcome of neonatal survivors. *Pediatr.Nephrol.* 1997;11(3):302-306.
- Ward C.J., Hogan M.C., Rossetti S. et al. The gene mutated in autosomal recessive polycystic kidney disease encodes a large, receptor-like protein. *Nat.Genet.* 2002;30(3):259-269. DOI: 10.1038/ng833.
- Onuchic L.F., Furu L., Nagasawa Y. et al. PKHD1, the polycystic kidney and hepatic disease 1 gene, encodes a novel large protein containing multiple immunoglobulin-like plexin-transcription-factor domains and parallel beta-helix 1 repeats. *Am.J.Hum.Genet.* 2002;70(5):1305-1317. DOI: 10.1086/340448.
- Bergmann C. Genetics of autosomal recessive polycystic kidney disease and its differential diagnoses. *Front.Pediatr.* 2018;5:221. DOI: 10.3389/fped.2017.00221.
- Bergmann C., Kupper F., Schmitt C.P. et al. Multi-exon deletions of the PKHD1 gene cause autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD). *J.Med.Genet.* 2005;42(10):e63. DOI: 10.1136/jmg.2005.032318.
- Bergmann C., Senderek J., Sedlacek B. et al. Spectrum of mutations in the gene for autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD/PKHD1). *J.Am.Soc.Nephrol.* 2003;14(1):76-89.
- Lu H., Galeano M.C.R., Ott E. et al. Mutations in DZIP1L, which encodes a ciliary-transition-zone protein, cause autosomal recessive polycystic kidney disease. *Nature Genet.* 2017;49(7):1025-1034. DOI: 10.1038/ng.3871.
- Bergmann C. ARPKD and early manifestation of ADPKD: the original polycystic kidney disease and phenocopies. *Pediatr.Nephrol.* 2015;30(1):15-30. DOI: 10.1007/s00467-013-2706-2.
- Cornec-Le Gall E., Audrézet M.P., Chen J.M. et al. Type of PKD1 mutation influences renal outcome in ADPKD. *J.Am.Soc.Nephrol.* 2013;24(6):1006-1013. DOI: 10.1681/ASN.2012070650.
- Harris P.C., Torres V.E. Polycystic kidney disease. *Annu.Rev.Med.* 2009;60:321-337. DOI: 10.1146/annurev.med.60.101707.125712.
- Hughes J., Ward C.J., Peral B. et al. The polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene encodes a novel protein with multiple cell recognition domains. *Nature Genet.* 1995;10:151-160.
- Hayashi T., Mochizuki T., Reynolds D. M. et al. Characterization of the exon structure of the polycystic kidney disease 2 gene (PKD2). *Genomics.* 1997;44:131-136.
- Lanktree M.B., Iliuta I.A., Haghighi A. et al. Evolving role of genetic testing for the clinical management of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrol.Dial. Transplant.* 2018. DOI: 10.1093/ndt/gfy261.
- Bergmann C., von Bothmer J., Ortiz Bruchle N. et al. Mutations in multiple PKD genes may explain early and severe polycystic kidney disease. *J.Am.Soc. Nephrol.* 2011;22(11):2047-2056. DOI: 10.1681/ASN.2010101080.
- Porath B., Gainullin V.G., Cornec-Le Gall E. et al. Mutations in GANAB, encoding the glucosidase II α subunit, cause autosomal-dominant polycystic kidney and liver disease. *Am.J.Hum.Genet.* 2016;98(6):1193-1207. DOI: 10.1016/j.ajhg.2016.05.004.
- Cornec-Le Gall E., Olson R.J., Besse W. et al. Monoallelic mutations to DNAJB11 cause atypical autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Am.J.Hum.Genet.* 2018;102(5): 832-844. DOI: 10.1016/j.ajhg.2018.03.013.
- Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б. и др. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2). Медицинская генетика 2019; 18(2): 3-23. DOI: 10.25557/2073-7998.2019.02.3-23.
- Вассерман Н.Н., Поляков А.В. Новый вариант р.Cys3024Тур и частые мутации в гене *PKHD1*, выявленные в семьях с аутосомно-рецессивной поликистозной болезнью почек в Российской Федерации. Медицинская генетика. 2019;18(1): 3-7. DOI:10.25557/2073-7998.2019.01.3-7.
- Melchionda S., Palladino T., Castellana S. et al. Expanding the mutation spectrum in 130 probands with ARPKD: identification of 62 novel PKHD1 mutations by sanger sequencing and MLPA analysis. *J.Hum.Genet.* 2016;61(9):811-821. DOI: 10.1038/jhg.2016.58.
- Audrézet M.P., Cornec-Le Gall E., Chen J.M. et al. Autosomal dominant polycystic kidney disease: comprehensive mutation analysis of PKD1 and PKD2 in 700 unrelated patients. *Hum Mutat.* 2012;33(8):1239-1250. doi: 10.1002/humu.22103.
- Carrera P., Calzavara S., Magistroni R. et al. Deciphering Variability of PKD1 and PKD2 in an Italian Cohort of 643 Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD). *Sci Rep.* 2016;6:30850. doi: 10.1038/srep30850.

References

- Zerres K., Rudnic-Schoneborn S., Steinkamm C. et al. Autosomal recessive polycystic kidney disease. *J.Mol.Med.* 1998; 76(5):303-309.
- Bergmann C., Senderek J., Windelen E. et al. Clinical consequences of PKHD1 mutations in 164 patients with autosomal-recessive polycystic kidney disease (ARPKD). *Kidney Int.* 2005;67(3):829-848. DOI: 10.1111/j.1523-1755.2005.00148.
- Obeidova L., Seeman T., Elisakova V. et al. Molecular genetic analysis of PKHD1 by next-generation sequencing in Czech families with autosomal recessive polycystic kidney disease. *BMC Medical Genetics.* 2015;16:116. DOI: 10.1186/s12881-015-0261-3.
- Bergmann C., von Bothmer J., Bruchle N.O. et al. Mutations in multiple PKD genes may explain early and severe polycystic kidney disease. *J.Am.Soc.Nephrol.* 2011;22(11):2047-2056. DOI: 10.1681/ASN.2010101080.
- Roy S., Dillon M.J., Trompeter R.S., Barratt T.M. Autosomal recessive polycystic kidney disease: long-term outcome of neonatal survivors. *Pediatr.Nephrol.* 1997;11(3):302-306.
- Ward C.J., Hogan M.C., Rossetti S. et al. The gene mutated in autosomal recessive polycystic kidney disease encodes a large, receptor-like protein. *Nat.Genet.* 2002;30(3):259-269. DOI: 10.1038/ng833.
- Onuchic L.F., Furu L., Nagasawa Y. et al. PKHD1, the polycystic kidney and hepatic disease 1 gene, encodes a novel large protein containing multiple immunoglobulin-like plexin-transcription-factor domains and parallel beta-helix 1 repeats. *Am.J.Hum.Genet.* 2002;70(5):1305-1317. DOI: 10.1086/340448.

8. Bergmann C. Genetics of autosomal recessive polycystic kidney disease and its differential diagnoses. *Front.Pediatr.* 2018;5:221. DOI: 10.3389/fped.2017.00221.
9. Bergmann C., Kupper F., Schmitt C.P. et al. Multi-exon deletions of the PKHD1 gene cause autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD). *J.Med.Genet.* 2005;42(10):e63. DOI: 10.1136/jmg.2005.032318.
10. Bergmann C., Senderek J., Sedlacek B. et al. Spectrum of mutations in the gene for autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD/PKHD1). *J.Am.Soc.Nephrol.* 2003;14(1):76-89.
11. Lu H., Galeano M.C.R., Ott E. et al. Mutations in DZIP1L, which encodes a ciliary-transition-zone protein, cause autosomal recessive polycystic kidney disease. *Nature Genet.* 2017;49(7):1025-1034. DOI: 10.1038/ng.3871.
12. Bergmann C. ARPKD and early manifestation of ADPKD: the original polycystic kidney disease and phenocopies. *Pediatr.Nephrol.* 2015;30(1):15-30. DOI: 10.1007/s00467-013-2706-2.
13. Cornec-Le Gall E., Audrézet M.P., Chen J.M. et al. Type of PKD1 mutation influences renal outcome in ADPKD. *J.Am.Soc.Nephrol.* 2013;24(6):1006-1013. DOI: 10.1681/ASN.2012070650.
14. Harris P.C., Torres V.E. Polycystic kidney disease. *Annu.Rev.Med.* 2009;60:321-337. DOI: 10.1146/annurev.med.60.101707.125712.
15. Hughes J., Ward C.J., Peral B. et al. The polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene encodes a novel protein with multiple cell recognition domains. *Nature Genet.* 1995;10:151-160.
16. Hayashi T., Mochizuki T., Reynolds D. M. et al. Characterization of the exon structure of the polycystic kidney disease 2 gene (PKD2). *Genomics.* 1997;44:131-136.
17. Lanktree M.B., Iliuta I.A., Haghighi A. et al. Evolving role of genetic testing for the clinical management of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrol.Dial. Transplant.* 2018. DOI: 10.1093/ndt/gfy261.
18. Bergmann C., von Bothmer J., Ortiz Bruchle N. et al. Mutations in multiple PKD genes may explain early and severe polycystic kidney disease. *J.Am.Soc. Nephrol.* 2011;22(11):2047-2056. DOI: 10.1681/ASN.2010101080.
19. Porath B., Gainullin V.G., Cornec-Le Gall E. et al. Mutations in GANAB, encoding the glucosidase II α subunit, cause autosomal-dominant polycystic kidney and liver disease. *Am.J.Hum.Genet.* 2016;98(6):1193-1207. DOI: 10.1016/j.ajhg.2016.05.004.
20. Cornec-Le Gall E., Olson R.J., Besse W. et al. Monoallelic mutations to DNAJB11 cause atypical autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Am.J.Hum.Genet.* 2018;102(5): 832-844. DOI: 10.1016/j.ajhg.2018.03.013.
21. Ryzhkova O.P., Kardymon O.L., Prokhorchuk E.B., et al. Rukovodstvo po interpretatsii dannykh posledovatel'nosti DNK cheloveka, poluchennykh metodami massovogo parallel'nogo sekvenirovaniya (MPS) (redaktsiya 2018, versiya 2). [Guidelines for the interpretation of massive parallel sequencing variants (update 2018, v2)]. *Meditsinskaya genetika [Medical genetics]* 2019; 18(2): 3-24. DOI: 10.25557/2073-7998.2019.02.3-23. (In Russ.)
22. Vasserman N.N., Polyakov A.V. Novyy variant p.Cys3024Tyr i chastyye mutatsii v gene PKHD1, vyyavlenyye v sem'yakh s autosomno-retsessivnoy polikistoznoy bolezn'yu pochek v Rossiyskoy Federatsii [Novel variant p.Cys3024Tyr and frequent mutations in the PKHD1 gene in patients with autosomal recessive polycystic kidney disease from Russian Federation]. *Meditsinskaya genetika [Medical genetics]* 2019;18(1): 3-7. DOI:10.25557/2073-7998.2019.01.3-7. (In Russ.)
23. Melchionda S., Palladino T., Castellana S. et al. Expanding the mutation spectrum in 130 probands with ARPKD: identification of 62 novel PKHD1 mutations by sanger sequencing and MLPA analysis. *J.Hum.Genet.* 2016;61(9):811-821. DOI: 10.1038/jhg.2016.58.
24. Audrézet M.P., Cornec-Le Gall E., Chen J.M. et al. Autosomal dominant polycystic kidney disease: comprehensive mutation analysis of PKD1 and PKD2 in 700 unrelated patients. *Hum Mutat.* 2012;33(8):1239-1250. doi: 10.1002/humu.22103.
25. Carrera P., Calzavara S., Magistroni R. et al. Deciphering Variability of PKD1 and PKD2 in an Italian Cohort of 643 Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD). *Sci Rep.* 2016;6:30850. doi: 10.1038/srep30850.