

Клиническая гетерогенность российских детей с нуклеотидными вариантами в гене *CRB2*

Милованова А.М.¹, Вашурина Т.В.¹, Ананьин П.В.¹, Пушков А.А.¹, Цыгин А.Н.¹, Савостьянов К.В.¹, Асанов А.Ю.²

- 1 — ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, к. 1
- 2 — ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

Нефротический синдром, вызванный нуклеотидными вариантами в гене *CRB2*, является редким и недостаточно хорошо изученным состоянием. На настоящий момент существует лишь несколько сообщений об этой патологии и нет ни одного описания мягкого течения заболевания. Целью настоящего сообщения является демонстрация фенотипических особенностей нефротического синдрома, вызванного мутациями в гене *CRB2*, и обоснование дальнейшего изучения его генетических причин. На базе нефрологического и молекулярно-генетического отделений ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» проведено ретро- и проспективное исследование генетических причин первичного стероидрезистентного нефротического синдрома (СРНС), включившее 250 детей. Среди 250 детей лишь двое имели причинные нуклеотидные варианты в гене *CRB2* (0,8% от всех детей с СРНС и 1,21% от детей с выявленными генетическими причинами СРНС). Дети имели разные течение болезни и выраженность экстраренальных проявлений. Выводы: нефротический синдром, вызванный мутациями в гене *CRB2*, является чрезвычайно редкой патологией. Нами описано два случая с абсолютно разным клиническим течением.

Ключевые слова: врожденные аномалии развития почек и мочевых путей, кисты почек, хроническая болезнь почек, нефротический синдром, стероидрезистентный нефротический синдром.

Для цитирования: Милованова А.М., Вашурина Т.В., Ананьин П.В., Пушков А.А., Цыгин А.Н., Савостьянов К.В., Асанов А.Ю. Клиническая гетерогенность российских детей с нуклеотидными вариантами в гене *CRB2*. *Медицинская генетика* 2021; 20(12): 58-61.

DOI: 10.25557/2073-7998.2021.12.58-61

Автор для корреспонденции: Анастасия Милованова; **e-mail:** Milovanova.am@nczd.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 01.12.2021.

Clinical heterogeneity of Russian children with a *CRB2* gene defect

Milovanova A.M.¹, Vashurina T.V.¹, Ananin P.V.¹, Pushkov A.A.¹, Tsygin A.N.¹, Savostyanov K.V.¹, Asanov A.Yu.²

- 1 — National Medical Research Center of Children's Health of the Ministry of Health of the Russian Federation 2/1, Lomonosovsky prospect, Moscow, 119991, Russian Federation
- 2 — I. M. Sechenov First Moscow State Medical University 8/2, Trubetskaya st., Moscow, 119991, Russian Federation

Nephrotic syndrome (NS) with variants in the *CRB2* gene is a rather rare condition, and there are only a few reports of its severe course and no one of mild one. The aim of the communication is to demonstrate the phenotypic features of nephrotic syndrome caused by mutations in the *CRB2* gene. On the basis of the nephrological and molecular-genetic departments of the Federal State Autonomous Institution "National Medical Research Center of Children's Health" we performed retro- and prospective study of the genetic causes of primary steroid-resistant nephrotic syndrome, included 250 children. Among 250 children, only two had causative nucleotide variants in the *CRB2* gene (0.8% of all children with steroid-resistant and 1.21% of children with identified genetic causes of SRNS). Children had a different course of the disease and the severity of extrarenal manifestations

Keywords: congenital abnormalities of kidney and urinary tract, kidney cysts, chronic kidney disease, nephrotic syndrome, steroid-resistant nephrotic syndrome.

For citation: Milovanova A.M., Vashurina T.V., Ananin P.V., Pushkov A.A., Tsygin A.N., Savostyanov K.V., Asanov A.Yu. Clinical heterogeneity of Russian children with a *CRB2* gene defect. *Meditsinskaya genetika [Medical genetics]* 2021; 20(12): 58-61. (In Russ.)

DOI: 10.25557/2073-7998.2021.12.58-61

Corresponding author. Milovanova A.M.; **e-mail:** Milovanova.am@nczd.ru

Funding. The research was carried out within the state assignment.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 01.12.2021.

Введение

Дефект гена *CRB2*, вызывающий нарушение структуры щелевой диафрагмы, впервые описан как причина стероидрезистентного нефротического синдрома (СРНС) в 2015 году Ebarasi с соавт. [1]. По данным van den Hurk с соавт. [2] высокая экспрессия белка *CRB2* была обнаружена в почках, сетчатке, головном мозге и меньше — в плаценте, сердце и легких, что свидетельствует о вероятных мишенях при его потенциальном генетическом дефекте. Slavotinek с соавт. [3] отметили, что СРНС, вызванный повреждением гена *CRB2*, имеет морфологические признаки фокально-сегментарного гломерулосклероза (ФСГС) и часто сопровождается появлением канальцевых микрокист, что может быть интерпретировано морфологами как признаки нефротического синдрома финского типа. Также Slavotinek с соавт. [3] и Lamont с соавт. [4] описали в качестве экстраренальных проявлений аномалии центральной нервной системы (вентрикуломегалия, нарушение оттока ликвора, гипоплазия мозжечка, кисты мозга и др.), кисты почек, врожденные пороки сердца, глаз (аномалии сетчатки, зрительного нерва), В-клеточную лимфому и т. д. Эффект основателя впервые описан Lamont с соавт. [4] в отношении нуклеотидного варианта *c.2400C>G p.N800K* этого гена у евреев-ашкенази. На сегодняшний день в мире известны лишь единичные случаи нефротического синдрома, вызванного дефектом гена *CRB2*, а случаи легкого течения заболевания без полного нефротического синдрома или множественных экстраренальных проявлений не описаны.

Методы

На базе нефрологического отделения и лаборатории медицинской геномики проведено ретро- и проспективное исследование генетических причин первичного СРНС, включившее 250 детей [5]. Протокол исследования был рассмотрен и одобрен локальным независимым этическим комитетом ФГАУ «НМИЦ здоровья детей», протокол №16. Информированное согласие на обработку персональных данных, участие в исследовании и проведение молекулярно-генетического исследования подписано родителями всех пациентов.

Всем детям было проведено молекулярно-генетическое тестирование путем массового параллельного секвенирования (NGS — next generation sequencing) целевых областей 200 генов, ассоциированных с наследственными заболеваниями почек, с использованием платформы Miseq (Illumina, США). Общий раз-

мер панели составил 0,9 млн п.н., средняя глубина прочтения целевых областей составила 150X. Были исследованы экзоны и прилежащие интронные области (до 20 нуклеотидов).

Биоинформатический анализ выполнен с использованием программного обеспечения Alamut (Interactive Biosoftware, France). Все идентифицированные нуклеотидные варианты классифицированы согласно руководству по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования [6]. Все выявленные варианты, ассоциированные с имеющимся фенотипом, верифицированы секвенированием по Сэнгеру. Анализ хроматограмм выполнен с использованием программного обеспечения Geneious software, version R10 (Biomatters, New Zealand) и референсной базы данных the GenBank Accession.

Результаты

В обследованной группе детей причинные нуклеотидные варианты выявлены у 66%, а нуклеотидные варианты в гене *CRB2* обнаружены только у двух детей (0,8%), что подтверждает редкость описанной патологии (таблица).

Ребенок 1 рожден от первой беременности путем экстракорпорального оплодотворения. Дебют заболевания с врожденного нефротического синдрома (периферические отеки, протеинурия нефротического уровня), артериальной гипертензии, при обследовании выявлены мегауретер и множественные кисты почек, также отмечалась задержка психомоторного развития (нейровизуализация не проводилась). По месту жительства протеинурия расценена как симптом рефлюкс-нефропатии, в связи с чем дообследование не проводилось. Биопсия почки не выполнена по причине перенесенной ранее односторонней нефрэктомии. Данных о результатах морфологического исследования удаленной почки нет. У ребенка с рождения отмечено умеренное снижение функции почек по клубочковой фильтрации, носившее стабильный характер (соответствовало хронической болезни почек 2 стадии) до возраста 3 г. 1 мес., когда рСКФ снизилась до 29 мл/мин/1,73 м².

У ребенка 1 выявлен гомозиготный нуклеотидный вариант *c.682G>A, p.A228T* в гене *CRB2* (родители обследованы и являются носителями).

В настоящее время ребенок получает нефропротективную терапию (иАПФ — ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента), что однако не привело к значимому снижению протеинурии. Стероиды и иммуносупрессивная терапия не применялись вследствие раннего дебюта и заведомой их неэффек-

Таблица 1

Пациенты с нефротическим синдромом, вызванным мутациями в гене *CRB2*

№	Пол	Возраст	Регион	Наследственный анамнез	Возраст дебюта	Симптомы	Дополнительные симптомы	рСКФ, мл/мин/1,73 м ²	Ген	Нуклеотидный вариант 1	Описание	Нуклеотидный вариант 2	Описание	Морфологический диагноз	Терапия преднизолоном	ЦсА
1	м	3 г.	Северная Осетия-Алания	Нет	0 мес.	ВНС + АГ	Метауретер, кисты почек, задержка психо-моторного развития	29	<i>CRB2</i>	<i>c.682G>A, p.A228T</i>	Не описан, вероятно патогенный	<i>c.682G>A, p.A228T</i>	Не описан, вероятно патогенный	Нет	Нет	Нет
2	д	16 л. 4 мес.	Краснодарский край	Нет	1 мес.	Протеинурия	Кисты почек	127	<i>CRB2</i>	<i>c.3449G>A, p.C1150Y</i>	Не описан, вероятно патогенный	<i>c.3559A>C, p.T1187P</i>	Не описан, вероятно патогенный	ФСГС	Нет	ЦсА 13 мес. – без эффекта

Примечание: М – мальчик, д – девочка, ВНС – врожденный нефротический синдром, АГ – артериальная гипертензия, ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз, ЦсА – циклоспорин А

тивности, а также сниженной функции почек по клубочковой фильтрации, что является противопоказанием к назначению таких препаратов, как циклоспорин и такролимус.

У ребенка 2 с возраста 1 года выявлена персистирующая протеинурия от 0,16 до 1 г/л без гипоальбуминемии. У девочки не отмечалось артериальной гипертензии, снижения функции почек и каких-либо экстраренальных проявлений. Психомоторное развитие соответствовало возрасту, когнитивные функции не страдали. В возрасте 6 лет выполнена биопсия почки, по результатам морфологического исследования выявлены признаки ФСГС без выраженного тубулоинтерстициального фиброза и атрофии канальцев. Учитывая отсутствие признаков нефротического синдрома, от проведения стероидной и иммуносупрессивной терапии было решено воздержаться, начата нефропротективная и антипротеинурическая терапия фозиноприлом в дозе 0,2-0,3 мг/кг/сутки. При очередном плановом обследовании в возрасте 10 лет по результатам УЗИ выявлены мелкие медуллярные кисты (3-6 мм). К 13 годам протеинурия выросла до нефротического диапазона, в связи с чем с подоцитопротективной целью было принято решение о попытке терапии циклоспорином в субтерапевтической дозе. В течение года на фоне терапии снижения протеинурии не получено (суточная потеря 2,2 г/сутки, 1,19 г/м²).

В возрасте 13 лет проведено молекулярно-генетическое исследование, по результатам которого были идентифицированы нуклеотидные варианты *c.3449G>A, p.C1150Y* и *c.3559A>C, p.T1187P* в экзонах 11 и 12 в компаунд-гетерозиготном состоянии в гене *CRB2* (родители также являются носителями гетерозиготных вариантов). В настоящее время (16 лет) у девочки сохраняется протеинурия нефротического уровня (2,2-3 г/л) без гипоальбуминемии и гиперазотемии (рСКФ 110 мл/мин, креатинин сыворотки 46 мкмоль/л), размеры кист 4-13 мм. Попытка лечения циклоспорином А в течение 13 месяцев оказалась неэффективной.

Обсуждение

На настоящий момент имеются лишь единичные сообщения о нефротическом синдроме, вызванном нуклеотидными вариантами в гене *CRB2*, и не описано ни одного случая без экстраренальных проявлений [1-4]. В нашей статье мы представили двоих детей с кардинально разным течением нефротического синдрома, вызванного мутациями в гене *CRB2*. У мальчика отмечаются типичные признаки этой генетической патологии [4], а у девочки протеинурия

и кисты почек выявлены лишь в подростковом возрасте, что ранее не было описано. Кроме того, отсутствие прогрессирования хронической болезни почек у девочки нетипично и дает основания обследовать на варианты в этом гене детей с относительно благоприятным течением заболевания. Успешного опыта применения иммуносупрессивной терапии у этой группы детей нет, однако применение субтерапевтических доз ингибиторов кальцинейрина с подоцитопротективной целью в связи с локализацией белка может быть оправдано.

Ни один из обнаруженных нами нуклеотидных вариантов ранее не был описан в профессиональной базе данных HGMD. Вариант *c.682G>A, p.A228T* встречается в популяционных исследованиях с частотой 0,0055%. Программы Alamut Visual. В соответствии с модулями Sift, Polyphen-2 и Mutation Taster оценивают выявленные варианты как патогенные. Согласно [6], они классифицированы как вероятно патогенные варианты [6].

Таким образом, будучи чрезвычайно редкой патологией, нефротический синдром, вызванный мутациями в гене *CRB2*, имеет значительную клиническую вариабельность и приводит к снижению функции почек вследствие персистирующей протеинурии и кист почек. Наличие определенного фенотипа помогает в диагностике лишь в некоторых случаях, в то же время нуклеотидные варианты *CRB2* могут быть неожиданными находками при молекулярно-генетическом тестировании, рекомендованном для всех пациентов с протеинурией.

Литература

- 1 Ebarasi L., Ashraf S., Bierzynska A., Gee H.Y., McCarthy H.J., Lovric S., et al. Defects of *CRB2* Cause Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. *Am J Hum Genet.* 2015;96(1):153–61.
- 2 van den Hurk J.A.J.M., Rashbass P., Roepman R., Davis J., Voesenek K.E.J., Arends ML, et al. Characterization of the Crumbs homolog 2 (*CRB2*) gene and analysis of its role in retinitis pigmentosa and Leber congenital amaurosis. *Mol Vis.* 2005
- 3 Slavotinek A., Kaylor J., Pierce H., Cahr M., Deward S.J., Schneidman-Duhovny D., et al. *CRB2* mutations produce a phenotype resembling congenital nephrosis, Finnish type, with cerebral ventriculomegaly and raised alpha-fetoprotein. *Am J Hum Genet.* 2015 DOI: 10.1016/j.ajhg.2014.11.013
- 4 Lamont R.E., Tan W.-H., Innes A.M., Parboosingh J.S., Schneidman-Duhovny D., Rajkovic A., et al. Expansion of phenotype and genotypic data in *CRB2*-related syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2016;24(10):1436–44.
- 5 Milovanova A.M., Pushkov A.A., Savostyanov K. V., Zrobok O.I., Vashurina T.V., Ananin P.V., et al. A study of genetic causes of congenital and infantile nephrotic syndrome in children of Russian Federation. *Nephrol Dial.* 2020 DOI: 10.28996/2618-9801-2021-1-57-72
- 6 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. <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2019.02.3-23>

References

- 1 Ebarasi L., Ashraf S., Bierzynska A., Gee H.Y., McCarthy H.J., Lovric S., et al. Defects of *CRB2* Cause Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. *Am J Hum Genet.* 2015;96(1):153–61.
- 2 van den Hurk J.A.J.M., Rashbass P., Roepman R., Davis J., Voesenek K.E.J., Arends ML, et al. Characterization of the Crumbs homolog 2 (*CRB2*) gene and analysis of its role in retinitis pigmentosa and Leber congenital amaurosis. *Mol Vis.* 2005
- 3 Slavotinek A., Kaylor J., Pierce H., Cahr M., Deward S.J., Schneidman-Duhovny D., et al. *CRB2* mutations produce a phenotype resembling congenital nephrosis, Finnish type, with cerebral ventriculomegaly and raised alpha-fetoprotein. *Am J Hum Genet.* 2015 DOI: 10.1016/j.ajhg.2014.11.013
- 4 Lamont R.E., Tan W.-H., Innes A.M., Parboosingh J.S., Schneidman-Duhovny D., Rajkovic A., et al. Expansion of phenotype and genotypic data in *CRB2*-related syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2016;24(10):1436–44.
- 5 Milovanova A.M., Pushkov A.A., Savostyanov K. V., Zrobok O.I., Vashurina T.V., Ananin P.V., et al. A study of genetic causes of congenital and infantile nephrotic syndrome in children of Russian Federation. *Nephrol Dial.* 2020 DOI: 10.28996/2618-9801-2021-1-57-72
- 6 Ryzhkova O.P., Kardymon O.L., Prohorchuk 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. (In Russ.) <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2019.02.3-24>