

## گزارش یک مورد بیماری کلیه پلی کیستیک اتوزوم مغلوب ناشی از دو جهش به صورت هتروزیگوت مرکب در ژن PKHD1: گزارش موردی

### چکیده

دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۱۴ ویرایش: ۱۳۹۵/۱۰/۲۷ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۲۹ آنلاین: ۱۳۹۵/۱۰/۳۰

**زمینه و هدف:** بیماری کلیه پلی کیستیک با توارث مغلوب یکی از شایعترین بیماری‌های توارثی با تظاهر در دوران نوزادی و کودکی است. ژن مسئول بروز این بیماری PKHD1 نام دارد. تظاهرات بیماری به‌طور شایع در نوزادی و کودکی مشخص می‌شوند.

**معرفی بیمار:** در این مطالعه یک دختر پنج ساله مبتلا به بیماری کلیه پلی کیستیک معرفی می‌شود. بیمار حاصل ازدواج غیرخویشاوند بود. مورد دیگری از بیماری مشابه در خانواده گزارش نشده بود. ژن مسئول بیماری در بیمار با استفاده از تکنیک توالی‌یابی نسل جدید تعیین توالی شد. دو واریانت جدید در این ژن در بیمار به صورت هتروزیگوت مرکب شناسایی شد (c.6591C>A, c.8222C>A). مطالعات بیوانفورماتیک نشان دادند که این واریانت‌ها با احتمال بالا بیماری‌زا هستند.

**نتیجه‌گیری:** توالی‌یابی این ژن در افراد مبتلا می‌تواند به تخمین صحیح خطر بروز مجدد بیماری در خانواده کمک کند و بروز بیماری کاهش یافته و یا مدیریت بیماری در خانواده بهتر صورت گیرد.

**کلمات کلیدی:** بیماری کلیه پلی کیستیک، اتوزومی مغلوب، توالی‌یابی.

محمد میر یونسی<sup>۱</sup>، مجید فردایی<sup>۲</sup>  
سید محمد باقر تابعی<sup>۲</sup>، سوده غفوری  
فرد<sup>۳\*</sup>

۱- مرکز تحقیقات ژنومیک، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.  
۲- گروه ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.  
۳- گروه ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

\* نویسنده مسئول: تهران، بزرگراه چمران، بلوار دانشجو، خیابان کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، گروه ژنتیک.

تلفن: ۲۳۸۷۲۵۷۲-۰۲۱

E-mail: s.ghafourifard@sbm.ac.ir

### مقدمه

این ژن یک جهش Missense در آگزون شماره ۳ این ژن به نام (c.107C.T.Thr36Met) می‌باشد. به جز این جهش که حدود یک پنجم موارد جهش‌های مولد این بیماری را شامل می‌شود، نقطه داغ جهش دیگری در این ژن یافت نشده است. به نظر می‌رسد بیشتر جهش‌ها منحصر به یک شجره‌نامه هستند.<sup>۱</sup> به‌طور شایع نشانه‌های این بیماری در دوران نوزادی است و این بیماری با مرگ و میر نوزادی همراه است. البته مواردی از این بیماری با تظاهر بالینی در دوران بزرگسالی نیز شناخته شده است.<sup>۲</sup> شایعترین تظاهر بیماری در نوزادان به صورت تاریخچه اولیگوهدروآمینوس، بزرگی کلیه‌ها و هیپوپلازی ریه است. این بیماری علت شایع نارسایی مزمن کلیه در کودکان است. البته ارگان‌های دیگری به‌جز کلیه هم در این بیماری درگیر می‌شوند. به‌عنوان مثال فیروز مادرزادی کبد می‌تواند منجر به

بیماری کلیه پلی کیستیک شامل انواعی از بیماری‌ها با الگوهای توارث اتوزومی غالب و اتوزومی مغلوب می‌باشد. توارث مغلوب آن (ARPKD; MIM 263200) یکی از شایعترین بیماری‌های توارثی با تظاهر در دوران نوزادی و کودکی است.

میزان بروز این بیماری ۱/۶۰۰۰ تا ۱/۵۵۰۰۰ تولد می‌باشد.<sup>۱</sup> ژن مسئول بروز این بیماری PKHD1 نام دارد و این ژن روی کروموزوم ۶ قرار دارد.<sup>۲</sup> این ژن طول بلندی به اندازه ۵۰۰ kb دارد.<sup>۳</sup> محصول پروتئینی این ژن Fibrocystin/polyductin است که به وفور در کلیه، کبد و پانکراس بیان می‌شود.<sup>۴</sup> تاکنون بیش از ۳۰۰ جهش در نواحی مختلف این ژن شناسایی شده است. شایعترین جهش یافته شده در

لنفوسیت‌های خون محیطی بیمار انجام شد. نواحی آگزونی و حد فاصل ایترون‌ها و آگزون‌های ژن PKHD1 به روش توالی‌یابی نسل جدید پس از غنی‌سازی نواحی هدف توسط NimbleGen Sequence Capture Array (Roche, Madison, USA) انجام شد. نتیجه توالی‌یابی دو واریانت جدید را به صورت هتروزیگوت مرکب در این ژن در بیمار نشان داد. واریانت اول (p.Thr274Lys) c.8222C>A تاکنون در بیماران گزارش نشده است.

همچنین فرکانس این واریانت در پایگاه‌های داده 1000 Genome و نیز BGI صفر است. مطالعات بیوانفورماتیک و پیش‌بینی بیماری‌زایی این واریانت با ابزار Polyphen نشان داد که این واریانت احتمالاً به ساختار پروتئین آسیب می‌رساند. همچنین ابزار Combined Annotation Dependent Depletion (CADD) نشان داد که این واریانت با CADD score=26 بیماری‌زا است.

واریانت دوم نیز که به صورت هتروزیگوت مشاهده شد، (p.Ser2197Arg) c.6591C>A بود. این واریانت نیز تاکنون در بیماران و نیز پایگاه‌های داده موجود گزارش نشده است. ابزارهای SIFT و Polyphen احتمال بیماری‌زایی این واریانت را مطرح کردند و CADD score آن نیز ۲۳/۸ گزارش شد. تعیین توالی با روش سانگر با استفاده از دستگاه ABI Prism3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) نتیجه توالی‌یابی نسل جدید را تایید کرد و بررسی جهش‌ها در والدین نشان داد که هر یک حامل یک جهش در ژن PKHD1 بودند.

افزایش فشار ورید پورت در این بیماران شود.<sup>۴</sup> هرچند ارتباط ژنوتیپ-فنوتیپ به‌طور کامل در این بیماری مشخص نشده است، وجود دو جهش Truncating معمولاً منجر به نوع شدید بیماری و مرگ در دوران جنینی می‌شود.<sup>۴</sup> هدف از این مطالعه معرفی یک مورد بیماری کلیه پلی‌کیستیک در یک دختر مبتلا بود.

## معرفی بیمار

در این مطالعه یک دختر پنج ساله مبتلا به بیماری کلیه پلی‌کیستیک معرفی می‌شود. خانواده بیمار جهت انجام مشاوره ژنتیک در اردیبهشت ۱۳۹۴ به مرکز جامع خدمات ژنتیک جنوب کشور در شیراز مراجعه کردند. بیمار فرزند دوم خانواده و حاصل زایمان طبیعی با نمره آپگار ۹-۱۰ بود.

مادر سابقه ابتلا به عفونت ادراری را در حین بارداری داد. بررسی‌های سونوگرافیک دوران جنینی نشان‌دهنده حجم طبیعی مایع آمنیوتیک بود. همچنین ناهنجاری کلیوی در دوران جنینی گزارش نشده است. در سن دو سالگی به دنبال عفونت ادراری بررسی سونوگرافیک کلیه انجام شد که نشان‌دهنده کیست‌های فراوان در هر دو کلیه بوده است. فرزند اول در سن دو سالگی به علت تشنج فوت شد. والدین غیرخویشاوند بودند. سابقه بیماری مشابه در خانواده وجود نداشت. پس از کسب رضایت آگاهانه از والدین، ۵ ml از خون وریدی بیمار گرفته شد. استخراج DNA با روش Salting out از

### بررسی برخی گزارشات مشابه

نویسندگان	سال انتشار	مجله	عنوان
Alchabib E, et al	۲۰۱۶	Nephrology (Carlton)	روش‌های بیوانفورماتیک برای تشخیص بیماری‌زایی یک جهش بد معنی در ژن PKHD1 در بیماری کلیه پلی‌کیستی نوع اتوزوم مغلوب
Bergmann C, et al	۲۰۰۵	Human Mutation	الگوریتم موثر برای غربالگری جهش‌های PKHD1 در بیماری کلیه پلی‌کیستی نوع اتوزوم مغلوب
Obeidova L, et al	۲۰۱۵	BMC Medical Genetics	بررسی ژنتیکی PKHD1 به‌وسیله روش‌های تعیین توالی نسل جدید در خانواده‌های چک مبتلا به بیماری کلیه پلی‌کیستی نوع اتوزوم مغلوب
Hao X, et al	۲۰۱۴	PLoS One	تعیین توالی کل آگزوم جهش‌های مغلوب PKHD1 را در یک خانواده چینی مشخص می‌کند
Thakur P, et al	۲۰۱۴	Case Reports in Genetics	جهش جدید در ژن PKHD1 پیش از تولد در یک جنین مبتلا به بیماری کلیه پلی‌کیستی نوع اتوزوم مغلوب

## بحث

پیشین همچون بیمار معرفی شده در این مطالعه هتروزیگوت مرکب بوده‌اند. از این‌رو بررسی دقیق عوارض بالینی یک جهش خاص به راحتی ممکن نیست.

از آنجایی که معمولاً جهش‌ها با فنوتیپ خفیف‌تری از بیماری همراه هستند<sup>۴</sup> وجود این جهش‌های Missense با فنوتیپ ملایم بیماری در مطالعه ما تطابق دارد. از سوی دیگر برخی جهش‌هایی که منجر به از دست رفتن کامل پروتیین مربوطه می‌شوند، با مرگ داخل رحمی همراه هستند.<sup>۴</sup>

هرچند تاکنون این دو واریانت در بیماران گزارش نشده بودند، پیش‌بینی با ابزارهای بیوانفورماتیک احتمال بیماری‌زا بودن این واریانت‌ها را مطرح کردند.

هرچند الگوی توارث اتوزومی مغلوب بیماری نشان‌دهنده بروز بیشتر بیماری در ازدواج‌های خویشاوندی است، با توجه به نرخ بالای بروز این بیماری در جمعیت‌های مختلف<sup>۱</sup> احتمال وقوع بیماری در فرزندان حاصل از ازدواج‌های غیرخویشاوند نیز وجود دارد.

بررسی ژنتیکی بیماران به پیش‌بینی احتمال تکرار این بیماری در خانواده کمک می‌کند و امکان تشخیص پیش از تولد (Prenatal diagnosis) و تشخیص ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی (Preimplantation genetic diagnosis) را فراهم می‌کند.

چنین رویکردی می‌تواند در کاهش بروز بیماری و یا مدیریت بهتر بیماری در خانواده کمک کند. با توجه به احتمال ۲۵٪ تکرار بیماری در سایر فرزندان در صورت تایید وجود جهش در والدین، اهمیت مشاوره ژنتیک در این حیطه بیشتر مشخص می‌شود.

تعیین جهش مسئول بروز بیماری کلیه پلی‌کیستیک با استفاده از روش‌های آنالیز پیوستگی و یا بررسی مستقیم جهش قابل انجام است. با توجه به پیچیدگی ژنتیکی ژن‌های مرتبط با این بیماری موفقیت این روش‌ها در یافتن جهش در نوع اتوزوم مغلوب این بیماری ۷۵-۶۵٪ بوده است.<sup>۱</sup>

البته استفاده از تکنیک‌های توالی‌یابی نسل جدید می‌تواند به افزایش سرعت و نیز موفقیت یافتن جهش‌های مسئول این بیماری کمک کند. در این مطالعه توالی ژن PKHD1 در یک بیمار مبتلا به نوع اتوزوم مغلوب بیماری کلیه پلی‌کیستیک با استفاده از توالی‌یابی نسل جدید بررسی شد و دو واریانت جدید Missense به صورت هتروزیگوت مرکب در این بیمار شناسایی شد. به‌طورکلی روش‌های توالی‌یابی نسل جدید می‌توانند در تایید تشخیص بیماری در مواردی که تشخیص‌های افتراقی متعددی مطرح هستند کمک‌کننده باشند. با وجود دقت بالای روش‌های توالی‌یابی نسل جدید، در مطالعه اخیر نتایج با روش تعیین توالی سانگر نیز تایید شد.

مطالعات پیشین وجود جهش‌های مختلف را در تمام طول توالی PKHD1 در بیماران مختلف نشان داده‌اند. از بیش از ۳۰۰ جهشی که تاکنون شناخته شده است، حدود نیمی از جهش‌ها از نوع Missense هستند.<sup>۴</sup> جهش‌های پیدا شده در مطالعه کنونی نیز با وجود جدید بودن در همین دسته شایع جهش‌ها قرار می‌گیرند. با توجه به متنوع بودن جهش‌های این ژن، بیشتر بیماران معرفی شده در مطالعات

## References

1. Rajanna DK, Reddy A, Srinivas NS, Aneja A. Autosomal recessive polycystic kidney disease: antenatal diagnosis and histopathological correlation. *J Clin Imaging Sci* 2013;3:13.
2. Pediatric End-Stage Renal Disease. United States Renal Data System. *Am J Kidney Dis* 1998;32(2 Suppl 1):S98-108.
3. Onuchic LF, Furu L, Nagasawa Y, Hou X, Eggermann T, Ren Z, 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):1305-17.
4. Hartung EA, Guay-Woodford LM. Autosomal recessive polycystic kidney disease: a hepatorenal fibrocystic disorder with pleiotropic effects. *Pediatrics* 2014;134(3):e833-45.
5. Harris PC, Torres VE. Polycystic kidney disease. *Annu Rev Med* 2009;60:321-37.
6. Adeva M, El-Youssef M, Rossetti S, Kamath PS, Kubly V, Consugar MB, et al. Clinical and molecular characterization defines a broadened spectrum of autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD). *Medicine (Baltimore)* 2006;85(1):1-21.

## Autosomal recessive polycystic kidney disorder due to two novel compound heterozygote mutations in PKHD1 gene: case report

Mohammad Miryounesi M.D.,  
Ph.D.<sup>1</sup>  
Majid Fardaei Ph.D.<sup>2</sup>  
Seyyed Mohammad Bagher  
Tabei Ph.D.<sup>2</sup>  
Soudeh Ghafouri-Fard M.D.,  
Ph.D.<sup>3\*</sup>

1- Genomic Research Center,  
Shahid Beheshti University of  
Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Department of Genetics, Shiraz  
University of Medical Sciences,  
Shiraz, Iran.

3- Department of Genetics, Shahid  
Beheshti University of Medical  
Sciences, Tehran, Iran.

\* Corresponding author: Department of  
Medical Genetics, Shahid Beheshti  
University of Medical Sciences,  
Koodakyar St., Daneshjoo Blvd.,  
Chamran Highway, Tehran, Iran.  
Tel: +98- 21- 23872572  
E-mail: s.ghafourifard@sbm.ac.ir

### Abstract

Received: 03 Jun. 2016 Revised: 16 Jan. 2017 Accepted: 18 Jan. 2017 Available online: 19 Jan. 2017

**Background:** Autosomal recessive polycystic kidney disorder (ARPKD) is one of the most prevalent hereditary disorders in neonates and children. Its frequency is between 1/6000 to 1/55000 births. In the most severe cases, it can be diagnosed prenatally by the presence of enlarged, echogenic kidneys and oligohydramnios. However, in the milder forms, clinical manifestations are usually detected in neonatal and childhood period. PKHD1 gene located on chromosome 6 is linked with this disorder. About half of detected mutations in this gene are missense ones. The largest protein product of this gene is called the FPC/polyductin complex (FPC). It is a single-membrane spanning protein whose absence leads to abnormal ciliogenesis in the kidneys.

**Case presentation:** Here we present a 5-year-old female patient affected with ARPKD. She has been born to a non-consanguineous healthy Iranian parents. No similar disorder has been seen in the family. Prenatal history has been normal. In order to find the genetic background, DNA was extracted from patient's peripheral blood lymphocytes. PKHD1 gene exons and exon-intron boundaries were sequenced using next generation sequencing platform. Two novel variants have been detected in compound heterozygote state in the patient (c.6591C>A, c.8222C>A). Bioinformatics tools predicted these variants to be pathogenic.

**Conclusion:** In the present study, we detected two novel variants in PKHD1 gene in a patient with ARPKD. The relatively mild phenotype of this patient is in accordance with the missense mutations found. Molecular genetic tools can help in accurate risk assessment as well as precise genotype-phenotype correlation establishment in families affected with such disorder to decrease the birth of affected individuals through preimplantation genetic diagnosis or better management of disorder.

**Keywords:** autosomal recessive, case reports, polycystic kidney disease, preimplantation diagnosis, sequencing.