

Молекулярно-генетические основы патогенеза синдрома Альпорта

Л.И. Шагам, Д.В. Шенцева

Московский НИИ педиатрии и детской хирургии

Alport syndrome: molecular genetic basis of pathogenesis

L.I. Shagam, D.V. Shentseva

Moscow Research Institute of Pediatrics and Pediatric Surgery

Синдром Альпорта — генетически детерминированная гломерулопатия, в основе которой лежит мутация генов, кодирующих цепи коллагена IV типа (COL4). В обзоре представлены современные данные о мутациях генов *COL4A3*, *COL4A4*, *COL4A5*. Дефекты гена *COL4A5* обнаруживаются у 85% обследованных пациентов, дефекты генов *COL4A3* и *COL4A4* — у 15%. Обсуждается необходимость проведения молекулярно-генетического исследования с целью верификации диагноза и решения вопроса о дальнейшей тактике ведения, поскольку иммуносупрессивная терапия у пациентов с синдромом Альпорта приводит к ускорению темпов прогрессирования заболевания.

Ключевые слова: дети, синдром Альпорта, гены *COL4A3*, *COL4A4*, *COL4A5*, молекулярно-генетическое исследование.

Alport syndrome is genetically determined glomerulopathy, the basis for which is mutation in the genes encoding the chains of collagen IV of type (COL4). The review gives an update on mutations in the *COL4A3*, *COL4A4*, and *COL4A5* genes. Defects in the *COL4A5* gene are found in 85% of the examined patients, and those in the *COL4A3* and *COL4A4* genes are detected in 15%. Whether a molecular genetic study should be performed to verify the diagnosis and to make further treatment policy decision is discussed since immunosuppressive therapy in patients with Alport syndrome accelerates disease progression.

Key words: children, Alport syndrome, *COL4A3*, *COL4A4*, and *COL4A5* genes, molecular genetic study.

Наследственные гематурии, к которым относятся синдром Альпорта и доброкачественная семейная гематурия (болезнь тонких базальных мембран), представляют собой группу моногенных заболеваний, причиной которых могут быть мутации различных генов [1]. Заболевания характеризуются выраженным полиморфизмом фенотипических проявлений, что может привести при синдроме Альпорта к необходимости проведения диализа и трансплантации почки в возрасте от 10 до 70 лет [2].

Большой интерес к данной группе заболеваний подтверждает опубликованное в 2013 г. руководство (экспертный гайдлайн) по диагностике и лечению синдрома Альпорта и болезни тонких базальных мембран, базирующееся на результатах международных мультицентровых контролируемых клинических исследований. Созданная база данных по синдрому Альпорта [3] свидетельствует, что с наибольшей частотой наследственная гематурия реализуется при мутациях гена коллагена IV типа (*COL4A3*/*COL4A4*/*COL4A5*), когда развивается синдром Альпорта или доброка-

чественная семейная гематурия. На втором месте по частоте возникновения заболевания находится ген *FN1*, мутации которого приводят к более редкой форме гломерулопатии с накоплением фибронектина, на третьем — ген *CFHR5*, мутации которого ведут к С3 гломерулонефриту [1].

Дифференциальная диагностика гематурии крайне затруднительна, поскольку данное нарушение является признаком большого количества приобретенных и наследственных заболеваний. В связи с этим «золотым стандартом» обследования больных с наследственной гематурией служит молекулярно-генетическая диагностика, позволяющая уточнить прогноз заболевания и определиться с эффективной тактикой ведения пациентов [3].

Синдром Альпорта — генетически детерминированная гломерулопатия, в основе которой лежит мутация генов, кодирующих α_3 , α_4 , α_5 -цепи коллагена IV типа (COL4). Заболевание проявляется гематурией, протеинурией, прогрессирующим снижением почечных функций и нередко сочетается с нарушением слуха и зрения [4].

Распространенность синдрома составляет 1 на 5000 населения. Около 3% случаев хронической почечной недостаточности у детей связано с синдромом Альпорта; 2,3% почечных трансплантаций проводится пациентам с данным синдромом [3, 5]. Морфологически заболевание характеризуется струк-

© Коллектив авторов, 2013

Ros Vestn Perinatol Pediat 2013; 6:25–28

Адрес для корреспонденции: Шагам Лев Иосифович — н.с. лаборатории общей патологии МНИИ педиатрии и детской хирургии

Шенцева Дарья Владимировна — асп. отделения наследственных и приобретенных заболеваний почек того же учреждения

125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

турными дефектами гломерулярной базальной мембраны, сопровождается гематурией и/или протеинурией [6].

Известно, что основной компонент клубочковой базальной мембраны — коллаген IV типа [7]. Белки коллагена IV типа взаимодействуют друг с другом, образуя так называемые протомеры, состоящие из трех молекул (мономеров). На сегодняшний день известны три типа протомеров: $\alpha_1\alpha_1\alpha_2$, $\alpha_3\alpha_4\alpha_5$ и $\alpha_3\alpha_3\alpha_6$ [8], из них в базальной мембране зрелых клубочков преобладает $\alpha_3\alpha_4\alpha_5$. Мономеры коллагена IV (α_1 — α_6) имеют схожую структуру. Они разделяются на четыре белковых домена, расположенных последовательно друг за другом: домен 7S, NC2, альфа-спиральный домен коллагенов и NC1. Образование протомеров возможно благодаря взаимодействию альфа-спиральных доменов соседних молекул. Домены 7S и NC1 обуславливают взаимодействие соседних протомеров с образованием более сложных сетевых структур коллагена. [7, 9, 10].

Генетическая основа синдрома Альпорта была впервые установлена в 1985 г. M. Fiengold и соавт. [11]. Позднее, в исследованиях начала 90-х годов XX века было показано, что синдром Альпорта может быть обусловлен мутацией в одном из трех генов, кодирующих цепи коллагена IV типа: *COL4A3*, *COL4A4* или *COL4A5* [9, 12]. Согласно имеющимся данным, мутации указанных генов приводят к посттрансляционным аномалиям сборки протомеров коллагена [13, 14].

У 85% пациентов с синдромом Альпорта выявляются дефекты гена *COL4A5*, который расположен на хромосоме Xq22 [12, 13]. Данная форма заболевания характеризуется X-сцепленным доминантным наследованием (преимущественно проявляется у мужчин) [12]. У женщин проявление синдрома зависит как от типа мутации гена, так и от паттерна инактивации хромосомы X в клетках организма [14]. На сегодняшний день выявлено около тысячи полиморфизмов и мутаций гена *COL4A5*, зарегистрированных в международной базе данных открытого доступа [15], среди них — патогенные мутации, приводящие к аминокислотным заменам, преждевременной терминации трансляции, сдвигу рамки считывания, удалению нескольких аминокислот из последовательности белка, а также мутации сайтов сплайсинга. Следует отметить, что подавляющее большинство описанных вариантов составляют одонуклеотидные полиморфизмы (что отмечалось и в ранее опубликованных работах) [13].

Дефекты генов *COL4A3* и *COL4A4*, располагающихся на хромосоме 2 в локусе 2q36 [16], вызывают аутосомную форму синдрома Альпорта, которая обнаруживается примерно у 15% пациентов [13]. Аутосомно-рецессивная форма синдрома Альпорта с мутацией генов *COL4A3* и *COL4A4* может быть вызвана

как гомозиготными мутациями, так и компаунд-гетерозиготностью одного из указанных генов [9, 17]. В литературе также сообщалось об аутосомно-доминантных формах синдрома Альпорта с мутациями в генах *COL4A3* или *COL4A4* [18], однако они являются более редкими. В этих генах выявлены патогенные мутации, приводящие к аминокислотным заменам, преждевременной терминации трансляции, сдвигу рамки считывания, а также мутации сайтов сплайсинга [14]. Выявленные полиморфизмы и мутации генов *COL4A3* или *COL4A4* также собраны в международной базе данных открытого доступа [19, 20].

Экзоны генов *COL4A3* и *COL4A4* разделены двунаправленным промотором, с которого осуществляется транскрипция обоих генов в противоположных направлениях. Данная промоторная область характеризуется повышенным GC-составом (60–80% на участке 1 т.п.н.), обилием CpG-участков, отсутствием TATA-бокса, наличием CCAAT-бокса (в промоторе *COL4A3*), GC- и CTC-боксов. При этом существуют два варианта транскрипции *COL4A4*: начиная с экзона 1 или с экзона 1'. Первый транскрипт преобладает в эпителиальных клетках, а второй характеризуется повсеместной, но более слабой экспрессией. Старты транскрипции второго транскрипта *COL4A4* и гена *COL4A3* находятся друг от друга на расстоянии всего 5 п.н., при этом старт эпителиального транскрипта *COL4A4* находится на расстоянии 373 п.н. от них [16]. Как правило, гены с общим двунаправленным промотором характеризуются коэкспрессией [21].

Оба основных альтернативных стартовых кодона трансляции *COL4A3* находятся в 1-м экзоне [21], в то время как стартовый кодон *COL4A4* — во 2-м экзоне. Таким образом, альтернативные транскрипты *COL4A4* отличаются друг от друга только 5'-нетранслируемой областью [16], а *COL4A3* — еще и аминокислотной последовательностью [21]. Регуляция транскрипции генов *COL4A3* и *COL4A4* осуществляется транскрипционным фактором LMX1B. В 1-м интроне *COL4A4* человека (— 55 п.н. в направлении 5' от 2-го экзона) найден сайт связывания данного фактора транскрипции, являющийся, по-видимому, энхансерным регуляторным элементом для *COL4A3* и *COL4A4*. Показано, что нокаут LMX1B приводит к понижению транскрипции цепей α_3 и α_4 коллагена IV типа в почке мышей, при этом интенсивность экспрессии первой, второй и пятой цепи не меняется [22]. Данный транскрипционный фактор на стадиях эмбрионального развития играет ключевую роль в формировании конечностей, почек и переднего сегмента глаз [23].

В настоящее время классификация синдрома Альпорта проводится по типу наследования генетического дефекта: различают X-сцепленную (№301050 по OMIM¹), аутосомно-доминантную (№104200) и аутосомно-рецессивную (№203780) формы [24–26]. Ди-

агноз синдрома Альпорта устанавливается на основании трех из пяти следующих критериев:

1. Гематурия или летальный исход от хронической почечной недостаточности в семье.
2. Гематурия и/или протеинурия в семье.
3. Специфические изменения базальной мембраны клубочков при электронной микроскопии нефробиоптата.
4. Снижение слуха по данным аудиометрии (никогда не бывает врожденной).
5. Врожденная патология зрения (передний лентиконус) [27].

Однако учитывая, что двусторонняя нейросенсорная тугоухость отсутствует примерно у 20–40% пациентов с синдромом Альпорта, а изменения органов зрения, такие как передний лентиконус и/или перимакулярные пятна, наблюдаются лишь у $1/3$ детей, а также высокую (17,2%) частоту мутаций *de novo* [28], постановка диагноза нередко весьма затруднительна, даже если ребенку была проведена нефробиопсия [29]. Верификация синдрома в сомнительных случаях крайне важна для выбора тактики ведения, поскольку, по данным многочисленных исследований, иммуносупрессивная терапия у пациентов с синдромом Альпорта приводит к ускорению темпов прогресси-

рования заболевания [30–32]. Это обуславливает крайнюю необходимость проведения молекулярно-генетического исследования.

Ранее считалось, что доброкачественная семейная гематурия, или болезнь тонких базальных мембран (№120070 по OMIM; мутации генов *COL4A3*, *COL4A4*) — генетически детерминированное ауто-сомно-доминантное непрогрессирующее заболевание, клинически проявляющееся микрогематурией [33, 34]. Исследования последних лет показали, что около 40% пациентов с болезнью тонких базальных мембран являются гетерозиготными носителями ауто-сомно-рецессивного варианта синдрома Альпорта [24, 35].

Трудности диагностики синдрома Альпорта и болезни тонких базальных мембран в значительной степени позволяют преодолеть современные методы генетического тестирования. Секвенирование генов *COL4A3*, *COL4A4* и *COL4A5* способно выявить мутации и полиморфизмы этих генов, а значит — выявить дефектный ген, подтвердить или исключить предполагаемый диагноз, установить форму заболевания. Высокопроизводительное секвенирование нового поколения уже сейчас применяется для диагностики синдрома Альпорта в нашей стране.

¹ Online Mendelian Inheritance in Man.

ЛИТЕРАТУРА

1. Deltas C., Pierides A., Voskarides K. *Molecular genetics of familial hematuric diseases*. Nephrol Dial Transplant 2013; 17: 123–126.
2. Storey H., Savage J., Sivakumar V. et al. COL4A3/COL4A4 Mutations and Features in Individuals with Autosomal Recessive Alport Syndrome. J Am Soc Nephrol 2013; 19: 45–48.
3. Savage J., Ars E., Cotton R.G. et al. DNA variant databases improve test accuracy and phenotype prediction in Alport syndrome. Pediatr Nephrol 2013; 30: 45–56.
4. Savage J., Gregory M., Gross O. et al. Expert guidelines for the management of Alport syndrome and thin basement membrane nephropathy. J Am Soc Nephrol 2013; 24: 364–375.
5. McCarthy P., Maino D. Alport Syndrome: a review. Clinical Eye and Vision Care 2000; 12: 139–150.
6. Beicht S., Strobl-Wildemann G., Rath S. et al. Next generation sequencing as a useful tool in the diagnostics of mosaicism in Alport syndrome. Gene 2013; 526: 474–477.
7. Wilson J.C., Yoon H.S., Walker R.J. et al. A novel Cys1638Tyr NC1 domain substitution in alpha5(IV) collagen causes Alport syndrome with late onset renal failure without hearing loss or eye abnormalities. Nephrol Dial Transplant 2007; 22: 1338–1346.
8. Hudson B.G. The molecular basis of Goodpasture and Alport syndromes: beacons for the discovery of the collagen IV family. J Am Soc Nephrol 2004; 15: 2514–2527.
9. Mochizuki T., Lemmink H.H., Mariyama M. et al. Identification of mutations in the alpha 3(IV) and alpha 4(IV) collagen genes in autosomal recessive Alport syndrome. Nat Genet 1994; 8: 1: 77–81.
10. Timpl R., Wiedemann H., van Delden V. et al. A network model for the organization of type IV collagen molecules in basement membranes. Eur J Biochem 1981; 120: 203–211.
11. Feingold J., Bois E., Chompret A. et al. Genetic heterogeneity of Alport syndrome. Kidney Int 1985; 27: 672–677.
12. Barker D.F., Hostikka S.L., Zhou J. et al. Identification of mutations in the COL4A5 collagen gene in Alport syndrome. Science 1990; 8: 2: 1224–1227.
13. Martin P., Heiskari N., Zhou J. et al. High mutation detection rate in the COL4A5 collagen gene in suspected Alport syndrome using PCR and direct DNA sequencing. J Am Soc Nephrol 1998; 9: 12: 2291–2301.
14. Hudson B.G. Triggvason K. Alport's syndrome, Goodpasture's syndrome and type IV collagen. N Engl J Med 2003; 25: 2543–2556.

15. https://grenada.lumc.nl/LOVD2/COL4A/home.php?select_db=COL4A5
16. Momota R., Sugimoto M., Ohashi T. et al. Two genes, COL4A3 and COL4A4 coding for the human alpha-3(IV) and alpha-4(IV) collagen chains are arranged head-to-head on chromosome 2q36. FEBS Lett 1998; 424: 11–16.
17. Lemmink H.H., Mochizuki T., van den Heuvel L.P. et al. Mutations in the type IV collagen alpha 3 (COL4A3) gene in autosomal recessive Alport syndrome. Hum Mol Genet 1994; 3: 8:1269–1273.
18. Longo I., Porcedda P., Mari F. et al. COL4A3/COL4A4 mutations: from familial hematuria to autosomal-dominant or recessive Alport syndrome. Kidney Int 2002; 61: 1947–1956.
19. https://grenada.lumc.nl/LOVD2/COL4A/home.php?select_db=COL4A3
20. https://grenada.lumc.nl/LOVD2/COL4A/home.php?select_db=COL4A4
21. Mariyama M., Leinonen A., Mochizuki T. et al. Complete primary structure of the human alpha 3(IV) collagen chain. Co-expression of the alpha 3(IV) and alpha 4(IV) collagen chains in human tissues. J Biol Chem 1994; 269: 23013–23017.
22. Morello R., Zhou G., Dreyer S.D. et al. Regulation of glomerular basement membrane collagen expression by LMX1B contributes to renal disease in nail patella syndrome. Nat Genet 2001; 27: 2: 205–208.
23. Marini M., Giacomelli F., Seri M. et al. Interaction of the LMX1B and PAX2 gene products suggests possible molecular basis of differential phenotypes in Nail-Patella syndrome. Eur J Hum Genet 2005; 13: 6: 789–792.
24. Haas M. Alport syndrome and thin glomerular basement membrane nephropathy: a practical approach to diagnosis. Arch Pathol Lab Med 2009; 133: 224–232.
25. Clifford E., Kashtan C.E., Alfred F. et al. Alport Syndrome: From Bedside to Genome to Bedside. Am J Kidney Dis 1993; 22: 627–640.
26. Kashtan C.E. Collagen IV-Related Nephropathies. Alport Syndrome and Thin Basement Membrane Nephropathy. Am J Kidney Dis 2001; 23: 6: 756–758.
27. Grünfeld J.P. Contemporary diagnostic approach in Alport's syndrome. Ren Fail 2000; 22: 6: 759–763.
28. Uraoka Y., Akano N., Tooda N. et al. Survey on heredity nephropathies (special reference to Alport's syndrome). Nihon Jinzo Gakkai Shi 1983; 25: 9: 1115–1125.
29. Kashtan C.E. Alport syndrome: an inherited disorder of renal, ocular, and cochlear basement membranes. Medicine 1999; 78: 5: 338–360.
30. Savige J., Rana K., Tonna S. et al. Thin basement membrane nephropathy. Kidney Int 2003; 64: 1169–1178.
31. Wang F., Zhao D., Ding J. et al. Skin biopsy is a practical approach for the clinical diagnosis and molecular genetic analysis of X-linked Alport's syndrome. J Mol Diagn 2012; 14: 6: 586–593.
32. Voskarides K., Pierides A., Deltas C. COL4A3/COL4A4 mutations link familial hematuria and focal segmental glomerulosclerosis. glomerular epithelium destruction via basement membrane thinning? Connect Tissue Res 2008; 49: 3: 283–288.
33. Tazón Vega B., Badenas C., Ars E. et al. Autosomal recessive Alport's syndrome and benign familial hematuria are collagen type IV diseases. Am J Kidney Dis 2003; 42: 5: 952–959.
34. Voskarides K., Demosthenous P., Papazachariou L. et al. Epistatic role of the MYH9/APOL1 region on familial hematuria genes. PLoS One 2013; 8: 3.
35. Uzak A.S., Tokgoz B., Dundar M. et al. A novel COL4A3 mutation causes autosomal-recessive Alport syndrome in a large Turkish family. Genet Test Mol Biomarkers 2013; 17: 260–264.

Поступила 24.09.13