

ABSTRAKT

Nefrotický syndrom je onemocnění ledvin, jehož podstatou je porucha podocytů. Může vzniknout sekundárně následkem infekce, systémového onemocnění či některých léků, nebo se vyskytne jako náhlá izolovaná primární porucha ledvin. Současný standardní léčebný postup zatěžuje pacienty četnými závažnými nežádoucími účinky. U části nemocných, kteří jsou k úvodní několikátýdenní glukokortikoidní léčbě rezistentní, se daří identifikovat kauzální genetický podklad, u ostatních zůstává příčina neznámá. U pacientů reagujících na úvodní glukokortikoidní léčbu remisí později může dojít k opakovaným relapsům s nutností dlouhodobé glukokortikoidní terapie. Tato práce popisuje vlastní originální výzkumné studie, které se zabývaly možnostmi zlepšení diagnostiky genetických příčin nefrotického syndromu, objevováním molekulární podstaty druhé nejčastější genetické příčiny steroid-rezistentní formy onemocnění (způsobené mutacemi transkripčního faktoru WT1) a hledáním klinických a laboratorních faktorů predikujících rezistenci ke glukokortikoidní léčbě.

Kombinací klasického Sangerova sekvenování a moderního sekvenování nové generace (NGS) jsme jako první v kohortě 18 let sbíraných vzorků českých a slovenských dětí s nefrotickým syndromem identifikovali monogenní příčinu u 38 % z nich. Nejprevalentnější byly kauzální varianty v genech *NPHS2* (15 %), *WT1* (9,5 %) a *NUP93* (5,4 %). Funkční studie odhalila významné změny v afinitě 6/8 mutantních forem transkripčního faktoru WT1 k cílové sekvenci DNA a luciferázová esej v buněčné linii HEK293 pak i zvýšenou expresi jednoho z cílových genů *ACTN1* u dvou mutantů WT1 s největší změnou vazebné afinity. Z dostupných klinických a laboratorních dat pacientů se nám nepodařilo nalézt parametr, který by predikoval terapeutickou odpověď na glukokortikoidy. Metoda NGS významně urychluje a zlevňuje diagnostiku monogenních příčin glukokortikoid-rezistentního nefrotického syndromu. Výsledek genetické analýzy nám již dnes umožňuje navrhnout efektivní individualizovanou léčbu u některých jedinců. U ostatních a to i u těch, u kterých je kauzální gen známý, se čeká na objasnění nebo upřesnění molekulární podstaty onemocnění. To je předpokladem úspěšné, efektivní, cílené a nežádoucími účinky nezatížené léčby, která je však bohužel dnes pro většinu těchto pacientů nedostupná.

Klíčová slova: funkční studie, genetická analýza, glukokortikoidy, ledviny, luciferázová esej, mutageneze, NGS, nefrotický syndrom, vazebná afinita, WT1