

# Genetika Alportovog sindroma

---

Peretić, Lea

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:769921>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-23**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Lea Peretić**

# **Genetika Alportovog sindroma**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2019.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za medicinsku biologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Tamare Nikuševe-Martić i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2018./2019.

Mentor rada: prof. dr. sc. Tamara Nikuševa-Martić

## **POPIS KRATICA I OBJAŠNENJA:**

**AS** – Alportov sindrom

**XLAS** – X-vezani oblik Alportovog sindroma (eng. X-linked Alport syndrome)

**ARAS** – autosomno recesivni oblik Alportovog sindroma (eng. autosomal recessive Alport syndrome)

**ADAS** – autosomno dominantni oblik Alportovog sindroma (eng. autosomal dominant Alport syndrome)

**ESRD** – završni stadij bubrežne bolesti (eng. end stage renal disease)

**GBM** – glomerularna bazalna membrana

**SNHL** – senzorneuralni gubitak sluha (eng. sensorineural hearing loss)

**AR** – autosomno recesivno

**AD** – autosomno dominantno

**OCT** – optička koherentna tomografija

**EM** – elektronska mikroskopija

**SM** – svjetlosna mikroskopija

**FSGS** – fokalno segmentalna glomerularna skleroza

**TBMN** – nefropatija tankih glomerularnih bazalnih membrana (eng. thin basement membrane nephropathy)

**BM** – bazalna membrana

**EBM** – epidermalna bazalna membrana

**NGS** – sekvenciranje sljedeće generacije (eng. next generation sequencing)

**SZO** – Svjetska zdravstvena organizacija

**ACEI** – inhibitori angiotenzin konvertirajućeg enzima

**ARB** – blokatori angiotenzinskog receptora

**USAG-1** – uterine sensitization-associated gene-1

## **SADRŽAJ:**

<b>SAŽETAK</b> .....	
<b>SUMMARY</b> .....	
<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. ETIOPATOGENEZA</b> .....	2
2.1. XLAS.....	3
2.2. ARAS.....	4
2.3. ADAS.....	4
<b>3. KLINIČKE ZNAČAJKE</b> .....	5
3.1. HEMATURIJA.....	6
3.2. PROTEINURIJA, ARTERIJSKA HIPERTENZIJA, RENALNA INSUFICIJENCIJA I ESRD.....	7
3.3. SLUŠNI SIMPTOMI.....	8
3.4. OČNI SIMPTOMI.....	8
3.5. OSTALI SIMPTOMI.....	9
3.6. OBITELJSKA ANAMNEZA.....	9
<b>4. DIJAGNOSTIČKA OBRADA</b> .....	10
4.1. KLINIČKO-DIJAGNOSTIČKI KRITERIJI.....	10
4.2. BIOPSIJA BUBREGA.....	13
4.3. PATOHISTOLOŠKI NALAZ.....	13
4.3.1. SVJETLOSNA MIKROSKOPIJA.....	13
4.3.2. ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA.....	13
4.3.3. IMUNOHISTOLOGIJA.....	14
4.4. BIOPSIJA KOŽE.....	15
4.5. GENSKO TESTIRANJE I SAVJETOVANJE.....	15

4.6. GENOTIP-FENOTIP KORELACIJA.....	18
<b>5. DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA.....</b>	<b>19</b>
<b>6. LIJEČENJE.....</b>	<b>21</b>
<b>7. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>23</b>
<b>8. ZAHVALA.....</b>	<b>24</b>
<b>9. POPIS LITERATURE.....</b>	<b>25</b>
<b>10. ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>28</b>

## SAŽETAK

Lea Peretić

### Genetika Alportovog sindroma

Alportov sindrom (AS) je rijetka nasljedna progresivna bolest bubrega koja vrlo često dovodi do terminalnog stadija bubrežne bolesti i ireverzibilnog oštećenja bubrežne funkcije. Klinički se prezentira progresivnim nefritisom, hematurijom, senzoneuralnim gubitkom sluha i poremećajima oka. Bolest je uzrokovana mutacijom gena *COL4A3*, *COL4A4* ili *COL4A5*, što rezultira sintezom nepravilnog kolagena tipa IV, strukturno važnog proteina bazalnih membrana u bubregu, uhu i oku. Bolest se najčešće (85%) nasljeđuje X-vezanom mutacijom gena *COL4A5*. U ovom obliku AS (XLAS) muškarci imaju težu kliničku sliku u odnosu na žene, imaju pridružene izvanbubrežne simptome i uglavnom razviju terminalni stadij zatajenja bubrega prije 30. godine. Samo 15% svih oblika AS je posljedica autosomne mutacije gena *COL4A3/COL4A4*, koje se mogu naslijediti recesivno (ARAS) ili, daleko rjeđe, dominantno (ADAS). ARAS se klinički prezentira kao i XLAS u muških pacijenata, dok ADAS može klinički varirati, bez obzira na zahvaćeni spol, od izolirane hematurije do završnog stadija bubrežne bolesti (ESRD). Bolest je progresivna i neizlječiva, ali poznato je da ACE inhibitori usporavaju progresiju bolesti i odgađaju nastup terminalne faze bubrežnog zatajenja.

Ključne riječi: Alportov sindrom, kolagen tipa IV, hematurija, ESRD, ACE inhibitor

## SUMMARY

Lea Peretić

### Genetics of Alport syndrome

Alport syndrome (AS) is a rare hereditary progressive kidney disease which often leads to end stage renal disease and irreversible damage of kidney function. It is clinically characterized by progressive nephritis, hematuria, sensorineural hearing loss and abnormalities of the eye. This disease is caused by mutation of the *COL4A3*, *COL4A4* or *COL4A5* genes, which results in the synthesis of the irregular type IV collagen, structurally significant protein of the basement membranes in kidney, ear and eye. The disease is most often (85%) inherited by the X-linked mutation of the *COL4A5* gene. In this AS type (XLAS) men are presented with more severe disease compared to women, with extrarenal symptoms and early onset of end stage renal disease, usually before age of 30. Only 15% of all AS types develop as a result of *COL4A3/COL4A4* autosomal mutation, which can be inherited recessively, or far less often, dominantly. ARAS is clinically presented similar to male XLAS patients, while clinical presentation of ADAS can vary, regardless of the affected sex, from isolated hematuria to end stage renal disease (ESRD). The disease is progressive and incurable, but it is well known that ACE inhibitors can slow down the progression of the disease and delay terminal stage of kidney failure.

Key words: Alport syndrome, type IV collagen, hematuria, ESRD, ACE inhibitor



## 1. UVOD

Alportov sindrom (AS) je rijetka, progresivna, nasljedna bolest bubrega (hereditarni nefritis) koja se može različito klinički prezentirati, od progresivne bubrežne bolesti s ekstrarenalnim manifestacijama, do izolirane hematurije koja ne progredira ili polako progredira do renalne insuficijencije (1, 2).

Bolest je prvi puta 1927. godine opisao britanski liječnik A. Cecil Alport kao sindrom nasljednog nefritisa i gluhoće. Zaključio je da je hematurija najčešći simptom kojim se ovaj sindrom prezentira te da muškarci oboljevaju s težom kliničkom slikom od žena. Nakon što su opisani slučajevi brojnih obitelji sa sličnim simptomima, bolest je 1961. godine nazvana Alportov sindrom prema svom otkrivaču. (3)

AS primarno zahvaća bubrege i najčešće se prezentira perzistentnom hematurijom te vrlo često dovodi do terminalnog stadija kronične bubrežne bolesti i progresivnog gubitka bubrežne funkcije (ESRD). Često se uz mikrohematuriju, koja katkad može biti izolirani simptom, nađu i proteinurija, arterijska hipertenzija i renalna insuficijencija. Osim bubrežnim, bolest se u većini slučajeva prezentira i ekstrarenalnim simptomima – bilateralnim senzoneuralnim gubitkom sluha na spektar visokofrekventnih tonova i abnormalnostima oka kao što su lentikonus i centralna ili periferna retinopatija. Rijetko se prezentira bolestima aorte i difuznom leiomiomatozom. (1, 2, 4)

Incidencija AS je 1:17 000 – 1:53 000 živorođene djece (4). To je rijetka nasljedna nefropatija, ali jedna od najčešćih nasljednih nefropatija koje dovode do ESRD, u čak 90% muških i oko 10% ženskih pacijenata (1). Drugi je najčešći uzrok monogenetskog bubrežnog zatajenja iza autosomno dominantne policistične bolesti bubrega (5).

## 2. ETIOPATOGENEZA

AS je genetski nasljedna bolest uzrokovana mutacijom gena *COL4A3*, *COL4A4* i *COL4A5*, koji kodiraju  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$  i  $\alpha 5$  lance kolagena tipa IV, što rezultira abnormalnom sintezom tih lanaca i posljedično stvaranjem defektnog kolagena tipa IV, prvenstveno u glomerularnim bazalnim membranama bubrega (4, 6).

Kolagen tipa IV je važan strukturni protein u bazalnim membranama bubrežnih glomerula, unutarnjeg uha (pužnice) i oka, koji im daje čvrstoću i integritet (2, 4, 6). Građen je od tri podjedinice, tj. tri alfa lanca, međusobno isprepletena u trostruku uzvojnici. Poznata su šest izomera alfa lanaca ( $\alpha 1$ - $\alpha 6$ ) (6). Kombinacija tri  $\alpha$  lanca je specifična za svaki organ. Tako je triplet  $\alpha 3$ - $\alpha 4$ - $\alpha 5$  specifično prisutan u bubregu u GBM, unutarnjem uhu (kohlearna bazalna membrana) i oku (bazalna membrana prednje lećne kapsule, Descemetova membrana rožnice, Bruchova membrana, tj. unutrašnji sloj žilnice), dok se triplet  $\alpha 5$ - $\alpha 5$ - $\alpha 6$  nalazi u Bowmanovoj čahuri i bazalnoj membrani kože (2, 6). U slučaju mutacije gena *COL4A3*/*COL4A4* ili *COL4A5*, uslijed abnormalne sinteze trostruke uzvojnice sastavljene od  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$  i  $\alpha 5$  lanaca, nastaje nepravilni kolagen tipa IV u bazalnim membranama bubrežnih glomerula, pužnice unutarnjeg uha i oka, što se klinički prezentira kao nefropatija, mikroskopska ili makroskopska hematurija (najčešće tijekom infekcije), senzoneuralni gubitak sluha na spektar visokofrekventnih tonova i lezije oka (2).

Tri su načina nasljeđivanja Alportovog sindroma: X-vezano nasljeđivanje (XLAS), autosomno recesivno (ARAS) i autosomno dominantno (ADAS). Najčešće je AS posljedica X-vezane mutacije gena *COL4A5*, u oko 80% slučajeva. U samo otprilike 15% slučajeva AS nastaje zbog autosomne mutacije gena *COL4A3*/*COL4A4*, pritom se češće nasljeđuje recesivno, a daleko rjeđe dominantno. (4-6). Ova genska heterogenost objašnjava zašto težina kliničke slike bolesti varira u pojedinim obiteljima te zašto kod nekih pojedinaca postoje ekstrarenalni simptomi, a u drugih ne (4, 6). XLAS je uzrokovan genskom mutacijom gena *COL4A5*, dok su ARAS i ADAS

uzrokovani mutacijama u genima *COL4A3/COL4A4* (6, 7). Genetskim testiranjem se utvrđuje ima li mutacije u genima *COL4A5* ili *COL4A3/COL4A4* te se potvrđuje način nasljeđivanja mutacije, a genetskim savjetovanjem se onda može informirati članove obitelji o riziku prenošenja mutacije te težini bolesti i prognozi. Klinički je teško procijeniti tijek bolesti, ali se to može preciznije učiniti na temelju rezultata genetskog testiranja i otkrivanja uzročne mutacije gena (5).

## **2.1. XLAS**

X-vezano nasljeđen Alportov sindrom nastaje zbog mutacije u genu *COL4A5*. U obiteljima u kojima postoji mutacija gena koja se prenosi X-vezano, majke heterozigoti s mutacijom gena *COL4A5* imaju 50% šanse prenijeti mutaciju u svakoj trudnoći. Tako će sinovi koji od heterozigotne majke naslijede mutirani gen oboljeti od Alportovog sindroma i vremenom će razviti ESRD, a u većini slučajeva i senzorneuralnu gluhoću, dok će kćeri koje su naslijedile mutaciju gena *COL4A5* od majke tipično imati samo asimptomatsku hematuriju, iako mogu razviti i težu bubrežnu bolest. Sinovi oboljeli od Alportovog sindroma, s mutiranim genom *COL4A5* nasljeđenim X-vezano od heterozigotne majke s *COL4A5* mutacijom, će prenositi mutaciju na sve svoje kćeri, ali nijednog sina. (5-8). Mutacije u X-vezanom obliku AS uključuju insercije/delecije, nonsense i splicing mutacije te mutacije s pomakom okvira čitanja (frameshift mutacije) i rezultiraju zatajenjem bubrega u ranoj dobi, uglavnom prije 30. godine, kao i učestalijim ekstrarenalnim manifestacijama (oftalmološke komplikacije, aneurizme aorte). Najčešće mutacije su substitucije glicina drugom aminokiselinom (argininom, glutamatom ili aspartatom). Pošto je glicin najmanja aminokiselina, substitucija drugom, većom aminokiselinom, dovodi do poremećaja u strukturi trostruke uzvojnice kolagena tipa IV, a težina mutacije korelira s ranijim razvojem ESRD i većim brojem ekstrarenalnih komplikacija. Muškarci sa X-vezanom mutacijom gena *COL4A5* generalno razvijaju težu kliničku sliku s

ekstrarenalnim manifestacijama i raniju progresiju do ESRD, dok u žena s XLAS klinička slika slabije korelira s težinom mutacije, vjerojatno zbog sporadične inaktivacije X-kromosoma (lionizacije). (5)

## **2.2. ARAS**

Autosomno recesivno nasljeđen Alportov sindrom uzrokovan je mutacijom gena *COL4A3* ili *COL4A4*. U obiteljima kod kojih se mutirani gen prenosi autosomno recesivno, roditelji djeteta oboljelog od AS su obavezno heterozigoti i prenose jednu mutaciju. Pri začeću, svako dijete ima 25% šanse oboljeti od AS, 50%-tne su šanse da budu asimptomatski ili simptomatski nosioci bolesti, a 25%-tne da ne obole niti da budu nosioci mutacije. (1, 4)

Težina kliničke slike i kliničkog tijeka bolesti također korelira s težinom mutacije, kao i kod XLAS. Pacijenti s dvije teške mutacije češće imaju ekstrarenalne manifestacije i ranije razvijaju progresiju bubrežne bolesti i ESRD u odnosu na one s jednom mutacijom. (5)

## **2.3. ADAS**

Kod rijetkog autosomno dominantnog načina nasljeđivanja Alportovog sindroma, uzrokovanog mutacijom u genima *COL4A3* ili *COL4A4*, svako dijete roditelja s mutacijom ima 50% šanse naslijediti mutaciju i oboljeti od AS (4, 6).

### 3. KLINIČKE ZNAČAJKE

AS je nasljedna bolest koja se primarno zahvaća bubrege kao progresivni nefritis, a glavni klinički kriterij za postavljanje dijagnoze Alportovog sindroma je perzistentna hematurija (4, 6). Klinička je slika bubrežne bolesti raznolika i varira od izolirane, neprogresivne hematurije do progresivne nefropatije karakterizirane perzistentnom hematurijom, proteinurijom, kroničnom bubrežnom bolešću, i naposljetku, terminalnom fazom bubrežnog zatajenja (ESRD). (4-6) Rizični čimbenici za egzacerbaciju bubrežnog oštećenja su infekcije, arterijska hipertenzija, preeklampsija i nefrotoksični agensi (5).

U Alportovom sindromu često su bubrežnoj bolesti pridruženi i ekstrarenalni simptomi u vidu neurogenog oštećenja sluha te očnih abnormalnosti kao što su prednji lentikonus (protruzija leće koja nastaje kao posljedica slabosti prednje lećne kapsule), stražnja subkapsularna katarakta, centralna ili periferna retinopatija i stražnja polimorfna distrofija rožnice (1, 4). Ekstrarenalni simptomi se mogu javiti u bilo kojoj dobi, no obično se razvijaju kasnije u životu (2). U rijetkih se oboljelih od Alportovog sindroma javljaju i poremećaji drugih organa, kao što su pridružena bolest aorte (primjerice, aneurizma aorte) ili difuzna leiomiomatoza jednjaka i traheobronhalnog stabla (4, 6).

Najtežu kliničku sliku s ranim razvojem ESRD u adolescenciji, mlađoj odrasloj dobi, ili čak djetinjstvu, te ekstrarenalnim manifestacijama, pokazuju muške osobe s XLAS (mutacija gena *COL4A5*). Klinička prezentacija u muških i ženskih pacijenata s ARAS (mutacija gena *COL4A3/COL4A4*) je slična kao kod muških pacijenata s XLAS. ADAS je najrjeđi oblik AS, ali zanimljiv jer je klinički jako varijabilan, od izolirane hematurije ili blage bubrežne bolesti do teške bubrežne bolesti s ekstrarenalnim manifestacijama i razvojem ESRD. (2, 6)

Nositeljice X-vezane mutacije se, kao i pacijenti s ADAS, mogu prezentirati blažom kliničkom slikom, ali i progresivnom bolešću s razvojem ESRD. Pacijenti koji su heterozigotni nosioci

mutacije gena *COL4A3/COL4A4* uglavnom imaju izoliranu mikrohematuriju te se često dijagnosticiraju kao TBMN, odnosno benigna obiteljska hematurija. (2)

Na AS valja posumnjati u onih pojedinaca koji imaju perzistentnu hematuriju, senzoneuralni gubitak sluha (SNHL) u dječjoj dobi, oftalmološke komplikacije i/ili pozitivnu obiteljsku anamnezu AS ili drugih bubrežnih bolesti (5, 6).

### **3.1. HEMATURIJA**

Perzistentna mikrohematurija je klinički glavna značajka AS, a definira se kao mikroskopski vidljiva krv u urinu koja traje dulje od 3 mjeseca, potvrđena analizom urina u najmanje dva uzorka (6).

Sve oboljele muške osobe s X-vezanim oblikom Alportovog sindroma (XLAS) imaju perzistentnu mikrohematuriju od rođenja ili ranog djetinjstva. Mogu se javiti i epizodne makrohematurije, osobito tijekom djetinjstva (4, 6). Više od 90% ženskih pacijentica s XLAS također ima mikrohematuriju, katkad intermitentnu (6).

U obradi hematurije važan je anamnestički podatak o bubrežnim bolestima s hematurijom, renalnom insuficijencijom i zatajenjem bubrega u obitelji, obzirom da je u X-vezanom obliku Alportovog sindroma čest slučaj pozitivne obiteljske anamneze hematurije (sa ili bez proteinurije) ili bubrežnog zatajenja. S druge strane, na temelju negativne obiteljske anamneze Alportov sindrom se ne može diferencijalno-dijagnostički isključiti jer se u oko 10% slučajeva radi o *de novo* mutacijama, bez pojavnosti bolesti u prethodnim generacijama (2, 6).

U autosomno recesivnom obliku (ARAS) je perzistentna mikrohematurija prisutna u svih muških i svih ženskih oboljelih od AS, bez spolne razlike, a nerijetka je i pojava epizodne makrohematurije (1). Klinički se ARAS prezentira identičnim simptomima kakve imaju muški

pacijenti s XLAS (4). Obitelji u kojima postoji nositelj mutacije na jednom alelu su obično asimptomatske ili se prezentiraju samo mikrohematurijom i umjerenom proteinurijom (1, 6). Većina oboljelih od autosomno dominantno nasljeđenog Alportovog sindroma (ADAS) ima hematuriju, često intermitentnu (2, 6).

### **3.2. PROTEINURIJA, ARTERIJSKA HIPERTENZIJA, RENALNA**

#### **INSUFICIJENCIJA I ESRD**

Razvijaju se u narednim godinama napredovanjem bolesti u svih muških oboljelih od XLAS te svih muških i ženskih pacijenata s ARAS, dovodeći postupno do terminalnog stadija bubrežnog zatajenja (ESRD) (1, 6). Brzina progresije bubrežne bolesti do ESRD ovisi o vrsti mutacije gena (2). U oboljelih od XLAS proteinurija je obično prepoznata već u ranom djetinjstvu, no kod muških pacijenata utvrđeno je da ESRD nastupa značajno ranije nego u ženskih pacijenata (1). Procijenjeno je da 60% muških oboljelih od XLAS razvije ESRD do 30. godine, a 90% njih do 40. godine (medijan pojavnosti ESRD je 25 godina). Otprilike 12% žena s XLAS razvije ESRD prije 40. godine, a postotak se povećava na 30% do 60. godine, odnosno 40% do 80. godine (medijan pojavnosti ESRD je 65 godina). (1, 6) Većina pacijenata s ARAS razvije značajnu proteinuriju u kasnom djetinjstvu ili ranoj adolescenciji te ESRD prije 30. godine (1). Proteinurija je također česta i u ADAS, razvija se godinama i napredovanjem bubrežne bolesti, ali je progresija do ESRD obično sporija nego u pacijenata s X-vezanom ili AR bolešću te se ESRD kod AD oblika bolesti obično ne pojavljuje prije kasnije odrasle dobi (4, 6, 9). Nužno je praćenje oboljelih i kontrola nefrologa svakih 6-12 mjeseci. Pacijenti kojima je transplantiran bubreg prate se svaki mjesec prvu godinu nakon transplantacije zbog rizika od razvoja anti-GBM protutijela i s njima povezanog glomerulonefritisa. (10, 11)

### **3.3. SLUŠNI SIMPTOMI**

Bilateralni senzoneuralni gubitak sluha na spektar visokofrekventnih tonova se tipično detektira audiometrijom u kasnom djetinjstvu ili ranoj adolescenciji u muških pacijenata s XLAS te u muških i ženskih pacijenata s ARAS (9).

U XLAS se SNHL vremenom razvija u 80-90% oboljelih muških te u nekih ženskih pacijenata. Incidencija SNHL u muških i ženskih pacijenata s ARAS pokazuje sličnost incidenciji SNHL u muških pacijenata s XLAS. U nekih obitelji s XLAS i ADAS, SNHL se detektira tek u odrasloj dobi. (6)

S obzirom na prosječnu dob u kojoj se javlja oštećenje sluha, preporučuje se kontrola audiologa u muške djece s XLAS, u muške i ženske djece s ARAS, te u svih pacijenata s mutacijom kolagena tipa IV i mikroalbuminurijom ili oštećenjem sluha, svake ili svake druge godine počevši u dobi od 5-6 godina (9).

### **3.4. OČNI SIMPTOMI**

Očne abnormalnosti kao što su prednji lentikonus (protruzija prednje lećne kapsule), stražnja subkapsularna katarakta (zamućenje stražnje lećne kapsule), stražnja polimorfna distrofija rožnice i centralna ili periferna retinopatija, tipične su oftalmološke komplikacije Alportovog sindroma (1, 6). Pojavljuju se u 15-20% pacijenata s XLAS ili ARAS i uglavnom se manifestiraju u klinički najtežih pacijenata u kasnoj adolescenciji ili mlađoj odrasloj dobi. (5, 6). Stoga je preporuka probir na oftalmološke komplikacije učiniti u muških pacijenata s XLAS te u muških i ženskih pacijenata s ARAS u dobi od 15-16 godina, ili ranije u slučaju pojave oftalmoloških simptoma (9). Promjene na mrežnici su uglavnom asimptomatske i ne oštećuju vid (5), te se javljaju u oko 60% pacijenata s XLAS, dok se prednji lentikonus pojavljuje u oko



30% pacijenata s XLAS (2). Oftalmološki pregled uključuje oftalmoskopiju, pregled očne pozadine, testiranje vidnog polja i vidne oštine te OCT (5).

### **3.5. OSTALI SIMPTOMI**

U pojedinih se bolesnika mogu javiti simptomi na drugim organskim sustavima, kao što su difuzna ezofagealna, traheobronhalna i genitalna leiomiomatoza te bolesti aorte kao što su aneurizme aorte (4, 6).

### **3.6. OBITELJSKA ANAMNEZA**

U oboljelih od AS često se nalazi pozitivna obiteljska anamneza hematurije, gluhoće i/ili terminalnog zatajenja bubrega (4). Obiteljska anamneza hematurije ili renalne insuficijencije može biti negativna jer je u 10-15% muških oboljelih od XLAS, kao i u oko 15% oboljelih od ARAS, bolest uzrokovana *de novo* mutacijom. (1, 2, 6)

#### 4. DIJAGNOSTIČKA OBRADA

Dijagnostička obrada je indicirana u svakog djeteta s perzistentnom hematurijom, proteinurijom i/ili bubrežnim oštećenjem, u slučaju ranog oštećenja sluha ili periferne retinopatije, te u slučaju pozitivne obiteljske anamneze AS, neistražene hematurije ili bubrežnih bolesti (5, 9). S obzirom na to da se radi o bolesti koja se može prezentirati varijabilnom te često i atipičnom kliničkom slikom (primjerice, pacijent se dominantno prezentira proteinurijom bez ekstrarenalnih manifestacija), dijagnozu je često teško postaviti (5). Kako navodi dr. Rachel Lennon (12), veoma je važno prepoznati kliničku različitost i širok fenotipski spektar kojim se AS može prezentirati, te učiniti genetičko testiranje na one gene na čiju mutaciju sumnjamo temeljem kliničke prezentacije pacijenta i pozitivne obiteljske anamneze, kako bi se izbjegla potreba za invazivnom biopsijom bubrega (9). Laboratorijska obrada hematurije uključuje analizu urina (nalaz cilindara, bjelančevina i dismorfnih eritrocita upućuje na bolest glomerula) te procjenu bubrežne funkcije (ureja, kreatinin, albumin/kreatinin omjer, BUN, tj. dušik ureja u krvi, serumski kreatinin, elektroliti, klirens kreatinina za procjenu glomerularne filtracije, itd.) (4, 6). Bitno je učiniti i probir na ekstrarenalne manifestacije (9). Konačna se dijagnoza potvrđuje biopsijom bubrega ili biopsijom kože, u slučajevima kad je biopsija bubrega kontraindicirana ili prerizična (4, 6). Kada je postavljena konačna dijagnoza AS, sljedeći je korak odluka o uvođenju terapije, planu liječenja i praćenju pacijenta.

#### 4.1. KLINIČKO-DIJAGNOSTIČKI KRITERIJI

Kliničke kriterije za dijagnozu Alportovog sindroma postavilo je Japansko Udruženje Pedijatrijskih Nefrologa (JSPN, od eng. *Japanese Society of Pediatric Nephrology*) 2015. godine. Dijagnostičke kriterije su prema kliničkim manifestacijama podijelili u tri skupine, odnosno kliničke značajke: primarnu, sekundarnu i terciarnu. (6)

Glavna i primarna klinička značajka Alportovog sindroma je perzistentna hematurija (4, 6). Klasificira se kao hematurija prisutna dulje od 3 mjeseca, potvrđena analizom urina u najmanje dva uzorka (6). U rijetkim situacijama moguća je pojava hematurije tek kad bubrežno zatajenje progredira do terminalne faze. U tom slučaju indicirano je učiniti laboratorijske pretrage za procjenu funkcije bubrega te temeljito obraditi pacijenta. (6, 13)

Pacijent uz primarnu značajku (perzistentnu hematuriju) mora zadovoljiti jedan ili više kriterija iz skupine sekundarnih značajki, ili u slučaju da nema simptoma koje zadovoljavaju skupinu sekundarnih značajki, mora zadovoljiti dva ili više kriterija iz terciarne skupine (dodatne značajke), kako bi se na temelju kliničke prezentacije bolesti mogla postaviti dijagnoza Alportovog sindroma (6). Ako se pacijent klinički prezentira samo perzistentnom hematurijom, ali ima člana obitelji koji boluje od Alportovog sindroma, klasificira se kao suspektan Alportov sindrom (5, 6).

U skupinu sekundarnih značajki ubrajaju se: (1) mutacije gena koji kodiraju za kolagen tip IV; (2) abnormalna ekspresija kolagena tipa IV; i (3) abnormalnosti specifične za GBM (6).

U mutacije gena za kolagen tipa IV spadaju homozigotne ili heterozigotne mutacije gena *COL4A3/COL4A4* te hemizigotne mutacije gena *COL4A5* (muške osobe) ili heterozigotne mutacije gena *COL4A5* (ženske osobe) (6).

Abnormalnu ekspresiju kolagena tipa IV možemo dokazati imunohistokemijski indirektnim imunofluorescentnim bojenjem protutijela na  $\alpha 1$  lance kolagena tipa IV (koje služi kao kontrola

uspješnosti bojenja),  $\alpha 3(\text{IV})$  i  $\alpha 5(\text{IV})$  lance, na svim biopsijama bubrega s kliničkim ili EM nalazom suspektim za AS i poremećaje slične AS ("spektar Alportovog sindroma"). (6)

Osim u GBM i Bowmanovoj čahuri,  $\alpha 5$  lanac kolagena tipa IV se nalazi i u bazalnoj membrani kože (2, 4). Imunohistokemijskim bojenjem na  $\alpha 5$ -lanac, normalni glomeruli i bazalna membrana kože, u kojima je uredna ekspresija kolagena tipa IV, boje se kontinuirano i linearno. Nasuprot tome, GBM, Bowmanova čahura i bazalna membrana kože su kod muških pacijenata s XLAS imunohistokemijski negativni (ne boje se), budući da je kolagen tipa IV defektan. Kod ženskih osoba s XLAS, GBM, Bowmanova čahura i BM kože se djelomično boje imunohistokemijski (6). U ARAS su  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$  i  $\alpha 5$  lanci u GBM imunohistokemijski negativni, dok je  $\alpha 5$  lanac u Bowmanovoj čahuri i BM kože imunohistokemijski pozitivan (1, 6). Unatoč prikazanom tipičnom obrascu imunohistokemijskog bojenja kolagena tipa IV, on se može i atipično imunohistokemijski bojati i biti lažno imunohistokemijski pozitivan (6). Stoga, čak i kad  $\alpha 5$  lanac imunohistokemijski pokazuje normalnu ekspresiju, ne možemo diferencijalno-dijagnostički isključiti AS (6, 7). Asimptomatski nosioci mutacije mogu biti dijagnosticirani na temelju mutacije u genima za kolagen tipa IV ili u slučaju abnormalne ekspresije kolagena tipa IV (2, 6).

Abnormalnosti specifične za GBM uključuju nepravilno zadebljanje glomerularne bazalne membrane i retikulaciju lamine denze, vidljive elektronskom mikroskopijom (EM) (4, 6). U Alportovom sindromu je također vidljivo i ekstenzivno stanjenje GBM, katkad kao jedini patohistološki nalaz GBM, koje se također nalazi i u TBMN (benignoj obiteljskoj hematuriji), koja stoga ulazi u diferencijalnu dijagnozu Alportovog sindroma (4, 6, 7). U slučaju takvog patohistološkog nalaza GBM, nađenog elektronskom mikroskopijom, dijagnoza Alportovog sindroma vjerojatnija je ako uz takav EM nalaz GBM pacijent ima i gubitak sluha, oftalmološke komplikacije ili pozitivnu obiteljsku anamnezu bubrežnog zatajenja (5, 6).

U tercijarnu skupinu dodatnih kliničkih značajki spadaju: (1) pozitivna obiteljska anamneza bubrežnih bolesti; (2) bilateralna senzoneuralna gluhoća; (3) oftalmološke komplikacije; i (4) difuzna leiomiomatoza (6).

## **4.2. BIOPSIJA BUBREGA**

Biopsija bubrega predstavlja primarnu dijagnostičku metodu identifikacije pacijenata s AS (4, 6), iako se ne radi u svih pacijenata. Bioptat bubrega pregledava se svjetlosnom i elektronskom mikroskopijom, a u mnogim nefropatološkim centrima standardna je dijagnostička procedura imunohistokemijsko bojenje na lance kolagena tipa IV kod svih pacijenata s kliničkim ili EM nalazom suspektim za AS. Imunohistokemijsko bojenje se pokazalo kao uspješna metoda te su u brojnim znanstvenim radovima opisani karakteristični obrasci bojenja za određene podtipove AS. Unatoč uspješnosti imunohistokemijske dijagnostičke metode, ona ima i svoja ograničenja te je u većine pacijenata nužno genetsko testiranje. (6)

## **4.3. PATOHISTOLOŠKI NALAZ**

### **4.3.1. SVJETLOSNA MIKROSKOPIJA**

Svjetlosnom mikroskopijom (SM) ne nalazi se specifični patohistološki nalaz kod Alportovog sindroma. Nespecifični patohistološki nalazi bioptata bubrega svjetlosnom mikroskopijom uključuju: mezangijalnu proliferaciju, FSGS, atrofiju bubrežnih kanalića, stvaranje pjenušavih stanica (povezanih s aterosklerozom) i intersticijsku fibrozu. (6)

### 4.3.2. ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA

Elektronskom mikroskopijom (EM) nalaze se u Alportovom sindromu patognomonične patohistološke promjene glomerula vidljive elektronskom mikroskopijom: naizmjenična zadebljanja i stanjenja glomerularne bazalne membrane s lameliranjem, retikuliranjem i fragmentiranjem lamine denze (4, 6). Patološki EM nalaz stoga je neophodan za potvrdu dijagnoze AS (6). No, katkad patološki nalaz GBM može biti vidljiv elektronskim mikroskopom tek kad je nefritis već uznapredovao, čak i u slučajevima muških pacijenata oboljelih od XLAS ili kod pacijenata s ARAS, dok se u ženskih osoba s XLAS te u pacijenata s ADAS patognomoničan EM nalaz vidi uglavnom tek u kasnijoj fazi bubrežne bolesti i često je to nalaz samo stanjenja GBM. U takvim slučajevima treba biti oprezan pri postavljanju dijagnoze i diferencijalno-dijagnostički u obzir uzeti TBMN, obzirom da se AS u ranoj fazi može prikazati samo EM nalazom tankih bazalnih membrana. (6, 7)

### 4.3.3. IMUNOHISTOLOGIJA

Specifični patološki nalazi mogu biti identificirani i imunohistokemijski, bojenjem protutijela na  $\alpha 5$  lanac. Oko 80% muških pacijenata s XLAS su u potpunosti imunohistološki negativni na  $\alpha 5$  bojenje, dok XLAS pacijentice pokazuju mozaični obrazac zahvaljujući mehanizmu inaktivacije X kromosoma. (1, 6) U pacijenata s ARAS, GBM je negativna na  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$  i  $\alpha 5$  bojenje, dok je Bowmanova čahura pozitivna na  $\alpha 5$  bojenje. Razlog tomu je što se trostruka uzvojnica u GBM sastoji od  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$  i  $\alpha 5$  lanaca, dok Bowmanova čahura sadrži  $\alpha 5$ - $\alpha 5$ - $\alpha 6$  trostruku uzvojnicu, a mutacije gena *COL4A3*/*COL4A4* ne utječu na ekspresiju  $\alpha 5$  lanca u Bowmanovoj čahuri. Bojenje  $\alpha 5$  lanca specifičnim protutijelima je korisna dijagnostička metoda, ali treba biti korištena jedino kao pomoćna metoda jer može pokazivati nespecifične promjene, kao i uredan nalaz u više od 20% muških s XLAS. (1, 4, 6)

#### **4.4. BIOPSIJA KOŽE**

Budući da se BM kože sastoji od kolagena tipa IV građenog od  $\alpha 5$ - $\alpha 5$ - $\alpha 6$  trostruke uzvojnice, u slučajevima kad je biopsija bubrega kontraindicirana ili prerizična, može se učiniti biopsija kože i imunohistološko bojenje anti- $\alpha 5$  lanaca u EBM kao pomoćna dijagnostička metoda za pacijente s X-vezanim oblikom AS (4, 6). Muški pacijenti s XLAS pokazuju negativnu  $\alpha 5$  ekspresiju, dok pacijentice s XLAS pokazuju mozaičnu ekspresiju na EBM zbog mehanizma inaktivacije X-kromosoma, kao što je slučaj i kod promatranja GBM elektronskom mikroskopijom (1, 6). Valja napomenuti da se smanjena ekspresija  $\alpha 5$  lanaca može uočiti i u papilarnom sloju EBM u normalnoj, urednoj koži (4, 6).

#### **4.5. GENSKO TESTIRANJE I SAVJETOVANJE**

Iako se konvencionalno konačna dijagnoza Alportovog sindroma postavlja patohistološkim nalazom bioptata bubrega (6), u nekih je pacijenata genetsko testiranje nužno te se u novije vrijeme, zahvaljujući napretku genetike, u mnogim svjetskim kliničkim centrima za postavljanje dijagnoze AS vrši genetsko testiranje kao dodatna ili čak zamjenska dijagnostička metoda, umjesto biopsije bubrega (9). Genetsko testiranje je neinvazivna metoda, a uz to i osjetljivija i specifičnija za postavljanje dijagnoze AS od biopsije bubrega, te na osnovi istraženih genotip-fenotip korelacija pruža informacije o kliničkom tijeku i težini bolesti te prognozi. Dokaz mutacije gena *COL4A5* ili *COL4A3/COL4A4* genetskim testiranjem potvrđuje dijagnozu AS. Također se genetskim testiranjem potvrđuje obrazac nasljeđivanja bolesti, odnosno nasljeđuje li se bolest X-vezano ili autosomno (recesivno daleko češće nego dominantno). Spoznajom o načinu nasljeđivanja može se predvidjeti tko je još u obitelji pacijenta pod rizikom za razvoj AS te da li postoji mogućnost pojave bolesti u narednim generacijama. Član obitelji kojem se genetskim testiranjem utvrdi da nema mutaciju,

potencijalni je donor bubrega bolesnom članu obitelji. Evaluacija rizičnih članova obitelji može se, osim analizom urina, preciznije učiniti molekularnim genetskim testiranjem, prenatalnom dijagnostikom u trudnoći s povećanim rizikom i preimplantacijskim genetskim testiranjima, ako su već otprije poznate mutacije gena u obitelji. Genetskim savjetovanjem može se informirati članove obitelji o riziku prenošenja mutacije na potomke te načinu nasljeđivanja bolesti. (5, 9)

Zahvaljujući velikom tehnološkom skoku genske analize posljednjih godina, došlo je i do značajnog napretka u mogućnostima dijagnosticiranja Alportovog sindroma pomoću genskog testiranja. Budući da se sva tri gena (*COL4A3*, *COL4A4* i *COL4A5*) sastoje od otprilike 50 egzona, nema uvijek realne potrebe za konvencionalnim Sangerovim sekvenciranjem cijelog genoma, već se genski probir za AS može provesti ciljanim sekvenciranjem gena koje obuhvaća sve egzone i granice egzona i introna u sva tri gena, opsežnom sekvencirajućom analizom NGS metodom (sekvenciranje sljedeće generacije). (5, 8, 9) Iako se Sangerovo sekvenciranje gena još uvijek koristi, sve je prisutnija uporaba brže, dostupnije, preciznije, a i sve jeftinije NGS metode, kojom se može detektirati gotovo 95% svih missense i nonsense mutacija, delecija i insercija, blizu granice introna i egzona. NGS metoda detektira simultano mutacije u genima *COL4A5*, *COL4A3* i *COL4A4* te drugim genima, što je važno kod bialelnih i digenskih mutacija. Bialelne mutacije su mutacije u dvama alelima, na različitim kromosomima, a mogu biti u cis formi (mutacije su locirane na istom genskom alelu, na istom kromosomu) ili trans formi (mutacije u istom genu, ali na različitim kromosomima). Digenske mutacije su dvije mutacije u različitim genima, primjerice mutacije u genima *COL4A5* i *COL4A3*. (5)

Danas se zna da genetski čimbenici utječu na klinički tijek i prognozu bolesti daleko više nego što se to prije smatralo. Rezultati genskog testiranja uvelike predviđaju klinički tijek bolesti u muških pacijenata s XLAS te muških i ženskih pacijenata s ARAS, iako klinički tijek može biti značajno promijenjen ranom primjenom ACE inhibitora. (9)



U ciljani genetski probir trebalo bi uključiti sve gene odgovorne za bubrežne bolesti koje klinički ili patološki nalikuju Alportovom sindromu. Primjerice, BOR (branhio-oto-renalni) sindrom se, između ostalog, klinički prezentira nefritisom i gluhoćom, stoga su pacijenti s ovim simptomima suspektni na AS. Patološki EM nalazi u Piersonovom sindromu, rijetkoj genetskoj bolesti koja poglavito zahvaća bubreg i oko, često uključuju lameliranje GBM-a, što je patognomoničan EM nalaz kod AS. Nadalje, neki slučajevi Piersonova sindroma s missense mutacijom u *LAMB2* genu imaju sklonost blažem fenotipu s kasnijim razvojem ESRD. Pacijente s brzim progresivnim kliničkim tijekom, kod kojih se teška bolest rano razvije, trebalo bi testirati i na dodatne genske mutacije koje dovode do oštećenja glomerula, primjerice: *LMX1B*, *PAX2*, *MYH9*, *NPHS2*, *ACTN4*, *MYO1E* i druge. Zajedničko mutacijama ovih gena su bolesti koje dominatno zahvaćaju bubreg te patološki EM nalaz lameliranja GBM. (5, 6, 8, 9)

Većina mutacija detektiranih u AS su *de novo* mutacije (oko 10%) (2), stoga je genetsko testiranje od iznimne važnosti kod genetski naljednih bolesti. Provođenjem adekvatnog genetskog testiranja i identifikacijom podležeće genske mutacije, u svakog pojedinog pacijenta, omogućuje se predviđanje kliničkog tijeka bolesti, pravodobno i rano započinjanje inicijalnog liječenja, i sukladno s time, vremensko odgađanje komplikacija bolesti te pružanje odgovarajućeg genetskog savjetovanja pacijentima i rizičnim članovima obitelji (5, 9).

Preporuka je svim pojedincima s hematurijom i EM nalazom lameliranja GBM, ili oštećenjem sluha te lentikonusom ili retinopatijom, u kojih se sumnja na AS, ponuditi genetsko testiranje na mutacije u sva tri gena zahvaćena u AS (*COL4A5* i *COL4A3/COL4A4*). Pojedincima s FSGS je također uputno ponuditi genetsko testiranje na mutacije gena zahvaćenih u AS, budući da nije neuobičajena koegzistencija AS i FSGS. Također, genetsko se testiranje savjetuje svim rizičnim članovima obitelji pacijenata s mutacijom gena *COL4A5*, tj. pacijenata s X-vezanim oblikom AS. (5)

#### **4.6. GENOTIP-FENOTIP KORELACIJA**

Istraživanja su pokazala da postoji povezanost između genotipa, odnosno vrste genetske mutacije, i kliničke slike kojom se prezentiraju muški pacijenti s X-vezanim oblikom AS te svi pacijenti s AR oblikom AS, dok u pacijenata s AD oblikom AS ova korelacija zasad još nije proučena (5, 6). Istraživanja o genotip-fenotip korelaciji su dragocjena jer se na temelju povezanosti genotipa oboljele osobe i njene kliničke prezentacije može procijeniti klinički tijek bolesti i kada će se razviti ESRD. Neke mutacije (insercije, delecije, nonsense i splicing mutacije, te supstitucija glicina argininom, glutaminom ili aspartatom) povećavaju vjerojatnost za razvoj teškog fenotipa s ranim nastupom bubrežnog zatajenja, lentikonusom i centralnom retinopatijom, što posebno vrijedi za muške pacijente s X-vezanim oblikom AS i muške i ženske pacijente s AR oblikom AS (5). Jedno od istraživanja o genotip-fenotip korelaciji proveli su 2000. Jais i sur. (14). U svom istraživanju analizirali su muške pacijente s XLAS. Rezultati istraživanja pokazali su da je medijan dobi u kojem muški pacijenti s XLAS razvijaju ESRD 25 godina, odnosno da 90% muških pacijenata razvije ESRD prije 40. godine. Iz genetičke perspektive, učestalost progresije bubrežne bolesti do ESRD prije 30. godine iznosila je 90% u slučaju delecija, nonsense i frame shift mutacija, 70% u slučaju splice site mutacija i 50% u slučaju missense mutacija. (6, 14) Za ženske pacijentice s XLAS dugo se smatralo da bi poremećaj u inaktivaciji X-kromosoma mogao utjecati na težinu kliničke slike i klinički tijek bolesti. Međutim, još nijedna klinička studija nije dokazala ovu povezanost. (1, 6)

## 5. DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA

Problem razlikovanja Alportovog sindroma i nefropatije tankih glomerularnih bazalnih membrana plijeni veliku pažnju i predstavlja posebni izazov za kliničare i stručnjake koji se bave Alportovim sindromom (4, 6).

AS i TBMN su genetski heterogeni, strukturalni poremećaji GBM, uzrokovani mutacijom gena koji kodiraju izoforme  $\alpha$  lanaca za sintezu kolagena tipa IV (*COL4A5*, *COL4A3/COL4A4*). Dominantni simptom kojim se prezentiraju oba poremećaja je hematurija, a glavna razlika je u kliničkom tijeku i progresiji bolesti. Stoga je razlikovanje AS i TBMN važno, ali nažalost i vrlo često komplicirano (6, 7).

AS je progresivna nasljedna nefropatija klinički karakterizirana hematurijom, progresivnim nefritisom, bilateralnim senzoneuralnim gubitkom sluha za spektar visokofrekventnih tonova i specifičnim oftalmološkim problemima. Karakterističan patološki nalaz na elektronskoj mikroskopiji je nepravilno stanjenje, zadebljanje i lameliranje GBM (2, 4, 6).

TBMN, poznat još i kao benigna obiteljska hematurija, je AD nasljedna nefropatija koja se klinički očituje hematurijom, s blagom proteinurijom ili bez nje. Najčešći je uzrok perzistentne hematurije u djece i odraslih, što je diferencijalno-dijagnostički značajan podatak s obzirom na to da se u vodeće uzroke perzistentne hematurije ubrajaju i AS i IgA nefropatija. (4, 7)

Najčešće je histološki SM nalaz glomerula u TBMN uredan, dok je na EM vidljivo difuzno stanjenje GBM, bez lameliranja lamine denze. Prema SZO, preporučena granična vrijednost debljine GBM za dijagnozu TBMN iznosi 250 nm za odrasle, odnosno 180 nm za djecu do 11. godine. (4, 6, 7)

Kao TBMN se najčešće dijagnosticiraju heterozigoti s mutacijama gena *COL4A3/COL4A4* (nosioci AR oblika AS) koji se klinički prezentiraju samo hematurijom bez proteinurije i za koje je poznato da neće razviti ESRD (6, 7). Naime, oni se po trenutnoj definiciji ne mogu

dijagnosticirati kao AS. Međutim, postoje istraživanja koja pokazuju da nemaju svi heterozigotni nosioci mutacija gena *COL4A3/COL4A4* benigni tijek bolesti s izvrsnom prognozom, kako se vjerovalo, nego da mogu imati i progresivan klinički tijek bolesti s proteinurijom, arterijskom hipertenzijom i razvojem ESRD. (6)

Prema Voskaridesu i sur. (15), određene mutacije gena *COL4A3/COL4A4* čine predispoziciju za razvoj FSGS i progresivno kronično zatajenje bubrežne funkcije. Ovakva zanimljiva istraživanja indiciraju da ipak ne postoji jasno razgraničenje između AS i TBMN, što kliničarima uvelike otežava postavljanje točne dijagnoze AS, a samim time i određivanje kliničkog tijeka bolesti i pravodobnog početka liječenja. Zato neki stručnjaci u ovom području smatraju da bi se pacijenti heterozigoti s mutacijama gena *COL4A3/COL4A4*, kliničkim nalazom hematurije i EM nalazom tankih GBM trebali klasificirati kao autosomno nasljedni AS, a ne kao TBMN te da bi trebalo TBMN iskorijeniti kao klinički entitet i mogućnost diferencijalne dijagnoze AS jer dijagnoza TBMN često podcjenjuje rizik progresivne bubrežne bolesti. (5, 6)

U diferencijalnu dijagnozu AS dolaze u obzir i brojne druge glomerulopatije, kao što su fokalna segmentalna glomeruloskleroza (FSGS), IgA nefropatija, membranoproliferativni glomerulonefritis (MPGN) i druge (2, 9). Mutacije gena *COL4A3*, *COL4A4* ili *COL4A5* su nađene u 10-30% pacijenata s FSGS (9); moguća etiologija FSGS je sekundarni razvoj uslijed abnormalnosti GBM u AS, a postoje i alternativne ideje da FSGS pripada spektru glomerulopatija primarno uzrokovanih mutacijama gena *COL4A3*, *COL4A4* i *COL4A5* (2). Hematurija je relativno čest nalaz u djece i odraslih, a u slučaju negativne obiteljske anamneze AS, vjerojatnija je dijagnoza IgA nefropatije, mnogo češće bolesti nego što je to AS (2). Genetska su testiranja pokazala da nije neuobičajena istovremena pojava AS, TBMN i IgA nefropatije, ali je često predviđena jer se ne učini biopsija bubrega i ne ustanovi stanjenje ili lameliranje GBM elektronskom mikroskopijom (5).

## 6. LIJEČENJE

AS je progresivna, neizlječiva bubrežna bolest koja vremenom dovodi do bubrežne insuficijencije i ESRD. Unatoč sve brojnijim istraživanjima novih terapijskih mogućnosti, radikalne terapije još uvijek nema te se liječenje Alportovog sindroma svodi na simptomatsko liječenje, usporavanje progresije bolesti i odgađanje terminalne faze zatajenja bubrega nefron-protektivnim lijekovima. (4, 6) Blokada RAAS (renin-angiotenzin-aldosteron sustav) se pokazala učinkovitom, a ACEI i ARB kao renoprotektivni lijekovi koji uspješno usporavaju progresiju nefritisa i odgađaju dob u kojoj se pojavljuje ESRD, čak i u muških pacijenata s X-vezanim oblikom AS koji razvijaju najtežu kliničku sliku (16).

U tijeku je randomizirano kliničko istraživanje u Njemačkoj (EARLY PRO-TECT ALPORT study) koje se provodi u svrhu potvrde nefroprotektivnih učinaka (6).

2011. i 2013. objavljeni su radovi u kojima su prikazani rezultati dviju randomiziranih kliničkih studija koje su ispitivale učinkovitost ACEI i ARB u redukciji proteinurije kod AS (6). Istraživanje objavljeno 2011. je uspoređivalo losartan (ARB) i placebo (18), a istraživanje iz 2013. enalapril (ACEI) i losartan (ARB) (17). Rezultati oba istraživanja pokazali su da su i ACEI i ARB učinkoviti lijekovi u redukciji proteinurije kod AS. (6, 17, 18)

U retrospektivnoj studiji iz 2012. (16) objavljeno je da u Alportovom sindromu ACEI imaju veći učinak u odgađanju progresije bubrežne bolesti do ESRD (6, 16). Prema smjernicama za liječenje AS i glomerulonefritisa tankih membrana, objavljenim 2013. (8), preporučeno je da se u muških pacijenata s XLAS započne inicijalno liječenje ACE-inhibitorima odmah nakon postavljanja dijagnoze. Cilj što ranijeg započinjanja terapije je usporenje progresije nefritisa i odgađanje terminalne faze bubrežne bolesti i zatajenja bubrežne funkcije. U ženskih pacijenata s XLAS preporuka prema smjernicama iz 2013. je započinjanje terapije kad se detektira proteinurija (uz postojeću mikrohematuriju). U ARAS, bez obzira na spol pacijenta, liječenje

ACE inhibitorima treba započeti odmah nakon dijagnosticiranja bolesti, a u ADAS se terapija uvodi detekcijom proteinurije. (6, 8)

Nijedna klinička studija dosad nije usporedila pojedinačan učinak ACEI ili ARB i dvostruki, sinergistički učinak ACEI i ARB. Teoretski, dvostruka blokada receptora uporabom ACEI i ARB bi mogla imati jači nefroprotektivni učinak, ali za sada još nema dokaza o toj hipotezi. (6)

U istraživanjima iz 90ih godina (19, 20) objavljeno je da ciklosporin u AS značajno reducira proteinuriju i ima renoprotektivni učinak u dugotrajno praćenih pacijenata (6, 19, 20). Međutim, novija istraživanja iz 2007. (21), 2010. (22) i 2014. godine (23) pokazala su da, iako značajno reducira proteinuriju, ciklosporin ujedno ubrzava i intersticijsku fibrozu i nema zaštitni učinak na bubrege, kako se u 90-ima mislilo (6, 21, 22, 23). Stoga se danas ciklosporin više ne rabi u terapiji AS. U fazi istraživanja su novi lijekovi kao što su bardoksolon metil i RG-012, terapija matičnim stanicama i USAG-1 (kontrola unutarstaničnog provođenja signala) (6).

Unatoč širokoj uporabi i zadovoljavajućim rezultatima primjene RAAS inhibicije, pacijenti s AS su i dalje u riziku za razvoj ESRD (9), te ga vrlo često i razviju, što ponajviše ovisi o tipu genetske mutacije i genetskoj podlozi u obitelji. U završnom stadiju kronične uznapredovale bubrežne bolesti provodi se potpuno bubrežno liječenje kroničnom hemodijalizom ili peritonejskom dijalizom u svrhu nadomještanja bubrežne funkcije. Kada se razvije ESRD jedino učinkovito rješenje, ali nažalost, često ne i dugoročno, je transplantacija bubrega. U usporedbi s nekim drugim bubrežnim bolestima, transplantacija bubrega u AS pokazuje dobre rezultate, međutim, u 2-5% transplantiranih bolesnika razvije se glomerulonefritis zbog antitijela na antigene kolagena tipa IV u presađenom bubregu. (4, 6, 10, 11)

Za oštećenje sluha nema kurativne terapije već je dostupno samo simptomatsko liječenje kao što je upotreba slušnih aparatić (6).

## 7. ZAKLJUČAK

Alportov sindrom je rijetka, ali nažalost progresivna, nasljedna glomerulopatija. U klasičnom se obliku očituje već u ranom djetinjstvu, obično prije 6. godine, i to progresivnim nefritisom, najčešće slučajnim nalazom perzistentne mikrohematurije (katkad epizodne makrohematurije), blagom proteinurijom, neurogenim oštećenjem sluha, obično prisutnim i prije nego postane kliničko očito, i očnim komplikacijama (lentikonus, retinopatija). Bolest se najčešće nasljeđuje X-vezanom, rjeđe AR, a najrjeđe AD mutacijom gena *COL4A5* ili *COL4A3/COL4A4*. Tijek bolesti je u dječaka s X-vezanim oblikom progresivan i obično završava bubrežnim zatajenjem prije 30. godine, dok gubitak sluha nastupa obično prije 40. godine. Uglavnom je klinički tijek bolesti blaži u djevojčica koje se najčešće prezentiraju izoliranom mikrohematurijom, a do progresije bubrežne bolesti može doći, ali ne mora. U AR obliku bolesti klinički je tijek u oba spola identičan kao kod dječaka s X-vezanim oblikom, s ranom progresijom bubrežne bolesti. AD oblik je najrjeđi, ali i najčešće klinički najblaži jer je progresija u bubrežno zatajenje najsporija kod ovog oblika Alportovog sindroma. AS spada u češće uzročnike bubrežnog zatajenja i potrebe za dijalizom i transplantacijom bubrega. Progresivna je i neizlječiva bolest te je moguće samo simptomatsko liječenje renoprotektivnim lijekovima koji usporavaju progresiju bolesti do ESRD i potpornim bubrežnim liječenjem kada dođe do ESRD. Puno je prostora za daljnja istraživanja ove bolesti, što terapijskih mogućnosti, što genetske tehnologije za učinkovitije, jednostavnije i brže genetsko testiranje i savjetovanje, a u svrhu ranijeg i točnijeg postavljanja dijagnoze, pravodobnog započinjanja liječenja, predviđanja kliničkog tijeka i obrazaca nasljeđivanja u rizičnih članova obitelji.

## **8. ZAHVALA**

Prije svega, zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Tamari Nikuševoj-Martić na strpljenju, razumijevanju, profesionalnom vodstvu i stručnim savjetima prilikom izrade ovog rada. Također zahvaljujem članovima Stručnog povjerenstva za ocjenu diplomskog rada, prof. dr. sc. Ljiljani Šerman i doc. dr. sc. Frani Paiću.

Zahvaljujem i svojoj obitelji i prijateljima na podršci tijekom cijelog studija.



## 9. POPIS LITERATURE

1. Lee JM, Nozu K, Choi DE, Kang HG, Ha II-S, Cheong HII. Features of Autosomal Recessive Alport Syndrome: A Systematic Review. *J Clin Med*. 2019
2. Vos P, Zietse R, van Geel M, Brooks AS, Cransberg K. Diagnosing Alport Syndrome: Lessons from the Pediatric Ward. *Nephron*. 2018;140(3):203-210.
3. Watson S, Bush JS. Alport Syndrome. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 - [pristupljeno 01.06.2019.]. Dostupno na:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470419/>
4. Mardešić D, i sur. *Pedijatrija*. 8. izd. Zagreb: Školska knjiga; 2003.
5. Savige J, Ariani F, Mari F, Bruttini M, Renieri A, Gross O, et al. Expert consensus guidelines for the genetic diagnosis of Alport syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2018
6. Nozu K, Nakanishi K, Abe Y, Udagawa T, Okada S, Okamoto T, et al. A review of clinical characteristics and genetic backgrounds in Alport syndrome. *Clin Exp Nephrol*. 2018
7. Rheault MN, Kashtan CE. Inherited glomerular diseases. *Pediatr Nephrol*. 2016;7 1918–84.
8. Savige J, Gregory M, Gross O, Kashtan C, Ding J, Flinter F. Expert guidelines for the management of Alport syndrome and thin basement membrane nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2013;24(3):364–75.
9. Rheault MN, Savige J, Randles MJ, Weinstock A, Stepney M, Turner AN, et al. The importance of clinician, patient and researcher collaborations in Alport syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2019
10. Kashtan CE. Renal transplantation in patients with Alport syndrome. *Pediatr Transplant*. 2006;10(6):651–7.

11. Kashtan CE. Renal transplantation in patients with Alport syndrome: patient selection, outcomes, and donor evaluation. *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2018;11:267-270.
12. Lennon R, Stuart HM, Bierzynska A, Randles MJ, Kerr B, Hillman KA, et al. Coinheritance of *COL4A5* and *MYOIE* mutations accentuates the severity of kidney disease. *Pediatr Nephrol.* 2015;30:1459–1465.
13. Savige J. Alport syndrome: deducing the mode of inheritance from the presence of haematuria in family members. *Pediatr Nephrol.* 2018
14. Jais JP, Knebelmann B, Giatras I, De Marchi M, Rizzoni G, Renieri A, et al. X-linked Alport syndrome: natural history in 195 families and genotype – phenotype correlations in males. *J Am Soc Nephrol.* 2000;11(4):649-57.
15. Voskarides K, Damianou L, Neocleous V, Zouvani I, Christodoulidou S, Hadjiconstantinou V, et al. *COL4A3/COL4A4* mutations producing focal segmental glomerulosclerosis and renal failure in thin basement membrane nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(11):3004-16.
16. Gross O, Licht C, Anders HJ, Hoppe B, Beck B, Tonshoff B, et al. Early angiotensin-converting enzyme inhibition in Alport syndrome delays renal failure and improves life expectancy. *Kidney Int.* 2012;81(5):494–501.
17. Webb NJ, Shahinfar S, Wells TG, Massaad R, Gleim GW, McCrary Sisk C, et al. Losartan and enalapril are comparable in reducing proteinuria in children with Alport syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2013;28(5):737–43.
18. Webb NJ, Lam C, Shahinfar S, Strehlau J, Wells TG, Gleim GW, et al. Efficacy and safety of losartan in children with Alport syndrome – results from a subgroup analysis of a prospective, randomized, placebo- or amlodipine-controlled trial. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;26(8):2521–6.

19. Callis L, Vila A, Carrera M, Nieto J. Long-term effects of cyclosporine A in Alport's syndrome. *Kidney Int.* 1999;55(3):1051–6.
20. Callis L, Vila A, Nieto J, Fortuny G. Effect of cyclosporin A on proteinuria in patients with Alport's syndrome. *Pediatr Nephrol.* 1992;6(2):140–4.
21. Charbit M, Gubler MC, Dechaux M, Gagnadoux MF, Grunfeld JP, Niaudet P. Cyclosporin therapy in patients with Alport syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2007;22(1):57–63.
22. Massella L, Muda AO, Legato A, Di Zazzo G, Giannakakis K, Emma F. Cyclosporine A treatment in patients with Alport syndrome: a single-center experience. *Pediatr Nephrol.* 2010;25(7):1269–75.
23. Sugimoto K, Fujita S, Miyazawa T, Nishi H, Enya T, Izu A, et al. Cyclosporin A may cause injury to undifferentiated glomeruli persisting in patients with Alport syndrome. *Clin Exp Nephrol.* 2014;18(3):492–8.

## **10. ŽIVOTOPIS**

Zovem se Lea Peretić. Rođena sam 29.08.1991. u Zagrebu, Republici Hrvatskoj. Završila sam XV. gimnaziju i GŠ Pavla Markovca 2010. godine. Iste godine upisujem Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija sam bila demonstrator na Zavodu za biologiju u ak. god. 2011./2012. i 2012./2013. te na Katedri za pedijatriju u ak. god. 2018./2019. Također sam tijekom studija radila preko Student servisa, u XV. gimnaziji kao pomoćni voditelj priprema za školska, županijska i državna natjecanja iz biologije za 1. i 3. razred srednje škole, te u Muzičkom ateljeu kao nastavni predavač klasične gitare. Služim se engleskim jezikom.