

PodoNet

Podositin Kalıtsal Hastalıklarında Klinik, Genetik ve Deneysel Araştırma Konsorsiyumu

Steroide Dirençli Nefrotik Sendrom İçin Klinik Kayıt ve Ailesel/Sendromik SRNS'in Genetik Araştırması

emel Araştırmacılar:

Prof. Dr. med. Dr.h.c. Franz Schaefer

Pediyatrik Nefroloji Ünitesi

Pediyatrik ve Adölesan Tıp Merkezi

Heidelberg Üniversite Hastanesi

Im Neuenheimer Feld 430

69120 Heidelberg, Almanya

Tel +49-6221-56-2349

Faks +49-6221-56-5166

franz.schaefer@med.uni-heidelberg.de

Özet

Steroid rezistan nefrotik sendrom (SRNS) nadir ancak önemli ve ciddi bir klinik durumdur. İdiopatik nefrotik sendromlu çocukların yaklaşık %15-20'sinde gözlenir. Hastaların %50'sine yakın kısmında yoğun immunosupresyon remisyonu sağlarken ve uzun süreli sekelleri önlerken, hastaların ciddi bir kısmında hastalığa genetik anormalliklerin neden olduğu görülmektedir. SRNS'in herediter tipleri tipik olarak herhangi bir immunosupresif tedaviye yanıt vermez ve hızla son dönem böbrek yetmezliğine ilerler. Genetik nedenli SRNS'li hastalar yoğun immunosupresif tedavilerden korunabilir ve transplantasyon sonrası bu hastalarda rekürrens gözlenmez. Ancak bugüne kadar tanımlanmış genler herhangi bir immunosupresif tedaviye yanıtız SRNS vakalarının yarısından azını açıklamaktadır.

PodoNet projesi uluslararası bir SRNS kayıt sistemi oluşturacaktır. Amacı, pediatrik ve erişkin SRNS formlarının bilinen genetik ve demografik özelliklerini araştırmak ve genotip-fenotip ilişkilerini değerlendirmektir. Bundan başka, klinik yönetimi iyileştirmeyi ve farklı tedavi protokolleriyle elde edilen sonuçları prospektif olarak analiz ederek yeni tedavi stratejileri geliştirmeyi de umuyoruz. SRNS'in genetik yapısını da araştıracağız.

PodoNet kayıt sistemine katılım her 6 ayda bir takma ad ile kodlanmış klinik bilgi toplanması, her 12 ayda bir kan ve idrar örneklerinin alınması ve DNA analizi için bir kerelik kan örneği alınmasından ibarettir.

İçindekiler

1.	Geriplan	4
2.	Çalışmanın amacı	5
3.	Çalışma dizaynı.....	5
4.	Dahil edilme kriterleri	5
5.	Hariç tutulma kriterleri	5
6.	Araştırma planı	5
7.	Çalışmadan çekilme	6
8.	İstatistik	6
9.	Etik kurallar	6
10.	Bilgilerin korunması	7
11.	Kaynaklar	8

1. Geriplan

İdiopatik nefrotik sendrom (INS) sıklıkla çocuklarda gözlenen, glomerüler seçici geçirgenliğin kaybı ve idrarla yoğun protein atılımının neden olduğu protein döngüsü, lipid metabolizması, hemostaz ve değişik endokrin sistemlerde ağır değişikliklerle karakterize bir hastalıktır. Hastaların önemli bir kısmında immun sistemdeki bir disregülasyon hastalıktan sorumludur; bu hastalar kortikosteroid ile immunosupresyona iyi yanıt verirler ve iyi bir prognoza sahiptirler. [1].

Zıt olarak, **steroid rezistan nefrotik sendrom (SRNS)**, INS'li çocukların yaklaşık %15-20'sinde gözlenir ve çok daha sıkıntılı bir durumdur. SRNS'nin kümülatif prevalansı beyaz ırkta yaklaşık her 100.000 çocukta 3-4'tür. SRNS ile en sık histopatolojik ilişki fokal segmental glomeruloskleroz (**FSGS**) dir [15]. SRNS'li hastaların bir kısmı (~%50) yoğun immunosupresif tedaviye yanıt verir [9;10;13]. Remisyona girme uzun vadede iyi prognozla ilişkili iken [4] cevapsız hastalar hızla kronik ve nihayetinde son dönem böbrek yetmezliğine ilerler [8].

Herhangi bir immunosupresif tedaviye cevapsız olan SRNS'li büyük bir alt grup geçen 10 yılda araştırmaların hedefi olmuştur. Bilhassa, pozisyonel klonlama yaklaşımları ile Mendeliyen patern gösteren ya otozomal resesif (OR) [2;3;7;11;12;16] veya otozomal dominant (OD) [6;19] SRNS'nin nadir ailesel formlarına neden olan genlerin tanımlanması glomerüler bazal membranı döşeyen, oluşturduğu ayaksı çıkıntılar, bunların arasındaki slit aralık ve burayı kapatan diafram ile glomerüler filtrasyon bariyerini oluşturan yüksek oranda özelleşmiş visseral epitel hücreleri olan **podositi** etkileyen gelişimsel ve yapısal defektlerin tanımlanmasına olanak sağlamıştır.

SRNS, genetik çalışmanın etkilenmiş hasta ve aileler için klinikle bağlantısını gösteren örnek bir hastalıktır. SRNS'in genetik nedenli olduğu çocuklar yoğun immunosupresif tedavilerden korunabilir [5;14]. Ebeveynlerde mutasyon analizi sadece aile planlamasında genetik danışma için değil aynı zamanda organ vericisi olarak akrabaların uygun olup olmadığını değerlendirirken de bir dayanak sağlar. [11]. Bunun ötesinde transplante böbrekte nefrotik sendrom rekürrens riski yapısal podosit defekti olan hastalarda SRNS'in immunolojik formlarından daha azdır [17;18]. Son olarak, klinik araştırma açısından, mutasyon taşıyanların immunosupresif protokollerden hariç tutulması cevap vermeyen hasta sayısını azaltacak ve klinik çalışmalarda farklı tedavi alternatiflerini karşılaştırmak için gerekli hasta sayısına ulaşmaya imkan tanıyacaktır.

2. Çalışmanın amacı

PodoNet, klinik, genetik ve yeni deneysel tedavi yaklaşımları dahil ülkelerarası işbirliğine dayanan araştırma stratejisi ile SRNS'li hastaların sağlığını düzeltmeye adanmış kapsamlı bir araştırma projesidir. Klinik ve genetik projeler tedaviyi mükemmelleştirerek ve kötü prognoz için risk faktörlerini tanımlayarak şimdiki ve gelecekteki SRNS hastalarına ve ailelerine faydalar sağlayacaktır.

PodoNet'in klinik ve genetik projelerinin amaçları:

1. Uluslararası "online" kayıt sistemi kurarak önemli miktarda SRNS hasta/aileleri ile klinik araştırma için biyolojik materyaller toplamak
2. Genotip/fenotip ilişkilerinin tanımlanmış genetik anormalliği olan SRNS hastalarının klinik son durumları da dahil olmak üzere sistematik çalışılması
3. Klinisyenlere SRNS'li çocuklarda tanı ve tedavi akış şemalarında uyumluluk sağlamak için akılcı klinik pratik rehberlerin sağlanması
4. SRNS'in ailesel ve/veya sendromik formlarına neden olan yeni genlerdeki anormallikleri tanımlayarak yeni nozolojik başlıklar oluşturmak

3. Çalışma dizaynı

Steroid rezistan nefrotik sendromlu çocuklarda retrospektif ve prospektif bilgi toplamayı amaçlayan longitudinal gözlemsel çalışma. Toplanacak bilgiler içerisinde tıbbi öykü, laboratuvar değişkenler ve genetik bilgi mevcuttur.

4. Dahil edilme kriterleri

- Katılan merkezlerde halen izlenmekte olan steroid rezistan nefrotik sendromlu çocuklar (0-18 yaş)
- Ailesel steroid rezistan nefrotik sendromlu erişkinler

5. Hariç tutulma kriterleri

- Steroide duyarlı nefrotik sendrom

6. Araştırma planı

Hastalığın ortaya çıkışı, ailesel olup olmaması, eşlik eden başka hastalık ya da durumlarla ilişkisi, farmakolojik tedavi ve hastalığın gidişatı ile ilgili retrospektif ve prospektif bilgi

toplanacaktır. Çalışmanın prospektif kısmında veriler 3 yıl boyunca her 6 ayda bir kaydedilecektir. Kan (5ml) ve idrar (20ml) örnekleri her 12 ayda bir toplanacaktır. Çalışma en az 3 yıl devam edecektir. Genetik test için hasta, her iki ebeveyn ve uygunsa diğer aile bireylerinden kan numunesi (5-10ml) alınacaktır.

Klinik veri, “web” tabanlı kayıt sistemine sadece herhangi bir hasta ile ilgili bilgi giren lokal araştırmacının bildiği takma ad ile (yerel olarak tanımlanmış harf ya da kod numarası ile) girilecektir. Ayrıca kan, DNA ve idrar örnekleri hastanın lokal doktorundan başka çalışmanın sonuçlarını herhangi bir hastaya bağlayacak hiçbir araştırmacının bilmeyeceği şekilde kodlanacaktır.

7. Çalışmadan çekilme

Bir hasta çalışmadan hastanın ya da ebeveynlerinin isteği üzerine ya da hasta çalışmanın tanısıl prosedürlerine uyamıyorsa çekilebilir

8. İstatistik

Çalışma keşfe yönelik, epidemiyolojik, longitudinal veri toplama şeklinde dizayn edilmiştir. Bu şekildeki çalışma dizaynı için gereken en az hasta sayısını biçimsel olarak hesaplamak mümkün değildir.

9. Etik kurallar

Bu kısım PodoNet projesinin insanları ilgilendiren klinik ve genetik kısmıyla ilgilidir. Çalışmalar Avrupa Birliği ve araştırmacının yapılacağı ülkeler tarafından düzenlenmiş olan tüm etik kurallar, kanunlar ve düzenlemelere uygun olacaktır. Konsorsiyum, “Helsinki Bildirgesi”, “Biyotıp ve İnsan Haklarının Korunması İçin Avrupa Konseyi”, “İnsanlara yönelik Biyomedikal Araştırmalar için CIOMS/WHO Uluslararası Etik Rehberler” ve “Bilgi Korunmasına Yönelik EU Yönergelerini” bilmektedir ve içeriklerine uyacaktır. ([95/46/EC](#)). Bundan başka konsorsiyum “İnsanların Klonlanmasının Yasaklanması” ile ilgili ilave protokol ile “İnsan Hakları ve İnsan Genomu Üzerine Evrensel Deklarasyonu” da izleyecektir.

Kayıt sistemine katılan tüm kurumlar yerel Etik Kurullar / Kurumsal İnceleme Kurulları’ndan onay alacaktır. Her bir kurumda ulusal ve yerel etik gereksinimleri karşılamak için gerekenler yapılacaktır.

Projede araştırmacının amaçları, içeriği ve riskleri anlama yetisi yaşla değişen çocuklar olacaktır. Mümkün oldukça bilgi hem sözel hem de yazılı olarak kapsamlı bir şekilde çocuğun anlayabileceği şekilde anlatılacaktır ve bilgilendirilmiş onam formu hem hastadan hem de

ebeveynlerinden alınacaktır. 9-10 yaşından daha küçük çocukların ve mental retardasyonlu adölesan ve erişkinlerin yasal vasilerinden bilgilendirilmiş onam formu vermeleri istenecektir.

Hem çocuk hem de yetişkin aile bireyleri çalışmaya girmeyi reddetme ya da herhangi bir zamanda sebepsiz geri çekilme hakkında bilgilendirilecektir. Çalışmaya katılımın gönüllülüğünü etkileyecek bir ikna çabası gösterilmeyecektir. Mümkün oldukça onay bir şahit varlığında alınacaktır.

Çalışma ve klinik kayıta dahil olmadan önce hasta ve aileleri amaç ve PodoNet projesinin prosedürleri hakkında detaylı bilgi alacaklardır (bkz. Hasta bilgi ve rıza formu). Çalışmaya katılmanın hastalığına faydası olup olmayacağı ve ileride kendi ya da akrabalarının aile planlamasına yardımcı olup olmayacağı hakkında bilgi sahibi olacaklardır. Çalışmanın sonuçlarının genetik böbrek hastalıkları hakkındaki bilgilerimizi bir bütün olarak etkileyebileceği ve toplum sağlığını iyileştirebileceğini, ayrıca korunma, tanı ve tedavide daha iyi stratejiler geliştirerek ileride SRNS ile doğan ya da risk altındaki hastalara yardımcı olabileceğini öğreneceklerdir.

Buna ilaveten, bu çalışmalara katılmanın getireceği yükün çok az olduğunu ve bunun hastaları ilave sağlık risklerine maruz bırakmayacağı hakkında da bilgilendirileceklerdir. Bu gözlemsel çalışmalarda olan minimal riskler nedeniyle hasta sigortası istenmeyecektir.

İnsan genetik ve biyokimyasal çalışmalarını yapacak laboratuvarlar merkez ve hasta kodunu belirten ve verici örnekleri arasında (ancak verici ile benzerlikleri olanlar arasında değil) ailesel ilişkiyi izlemeye izin veren kodlanmış DNA veya serum örnekleri alacaktır.

Araştırmacılar, hasta ya da diğer aile bireyleri ile ilgili tesadüfen klinik önemi olan bir anormallik bulabilirler. Bu durumda çalışmaya katılan laboratuvarlar çalışma sonuçlarını ailelere bilginin iletilmesinde sorumlu olacak yerel doktoruna iletmek mecburiyetinde olacaktır. Aileler genetik bulguların klinik bulgularla ilişkisi hakkında bilgilendirilecektir. Ailelere ayrıca örneklerin açık onay alınmaksızın SRNS ile ilişkili genlerin tanımlanma amacından başka amaçlarla kullanılmayacağı hakkında bilgi verilecektir.

10. Bilgilerin korunması

Bilgilerin korunması hakkında en üst düzey etik standartlar uygulanacaktır. Bilhassa kişisel bilgilerin işlenmesi hakkında bireylerin korunması için EU Direktif 95/46/EC'e uyulacaktır.

Bilgilerin en uygun şekilde gizliliği, doğruluğu, güvenliği ve yasal yönetimi aşağıdaki önlemlerle güvence altına alınacaktır:

- Elde edilen tüm klinik bilgi ve biyolojik örnekler ve dokular kodlanmış olarak merkez ofis ve laboratuvarlara nakledilecektir. Sadece görevli doktor tetkik sonuçlarını tanımlı bireye tekrar tahsis etmeye yetkilidir. Bu yolla klinik merkez dışında tüm işlenmiş bilgiler ve

materyallerin hastalarla olan ilişkileri yok edilerek kimlik korunması garanti altına alınmış olacaktır.

- Klinik bilgiler en son teknoloji ürünü şifreleme sistemi ile güvenli bir “web” sitesine girilecektir. Retrospektif bilgiler hasta kayıtlarından alınırken prospektif bilgiler direkt “online” olarak elde olunacaktır.
- Tek tip vaka rapor form menüsü sadece gerekli ve yeteri kadar bilginin kaydedilmesini sağlayacaktır.
- Bilgiler bu taslakta belirtildiği amaçlar için kullanılacaktır. Bu amaçlar dışındaki kullanım için açık hasta onayı gerekecektir. Ayrıca bilgiler hastanın rızası olmaksızın konsorsiyum dışındaki bir yere ya da laboratuvara gönderilmeyecektir.
- Bilgi ve materyaller ulusal kural ve düzenlemelerin gerektirdiği şekilde saklanacaktır.

11. Kaynaklar

1. Primary nephrotic syndrome in children: clinical significance of histopathologic variants of minimal change and of diffuse mesangial hypercellularity. A Report of the International Study of Kidney Disease in Children. *Kidney Int.* 20:765-771, 1981
2. Barboux S, Niaudet P, Gubler MC, Grunfeld JP, Jaubert F, Kuttenn F, Fekete CN, Souleyreau-Therville N, Thibaud E, Fellous M, McElreavey K: Donor splice-site mutations in WT1 are responsible for Frasier syndrome. *Nat.Genet.* 17:467-470, 1997
3. Boute N, Gribouval O, Roselli S, Benessy F, Lee H, Fuchshuber A, Dahan K, Gubler MC, Niaudet P, Antignac C: NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat.Genet.* 24:349-354, 2000
4. Cattran DC, Rao P: Long-term outcome in children and adults with classic focal segmental glomerulosclerosis. *Am.J.Kidney Dis.* 32:72-79, 1998
5. Hoyer, P. Steroid resistant nephrotic syndrome, in *Comprehensice Pediatric Nephrology*, edited by Geary D and Schaefer F. 257-268. 2008. Elsevier.
6. Kaplan JM, Kim SH, North KN, Rennke H, Correia LA, Tong HQ, Mathis BJ, Rodriguez-Perez JC, Allen PG, Beggs AH, Pollak MR: Mutations in ACTN4, encoding alpha-actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat.Genet.* 24:251-256, 2000
7. Kestila M, Lenkkeri U, Mannikko M, Lamerdin J, McCready P, Putaala H, Ruotsalainen V, Morita T, Nissinen M, Herva R, Kashtan CE, Peltonen L, Holmberg C, Olsen A, Tryggvason K: Positionally cloned gene for a novel glomerular protein--nephrin--is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol.Cell* 1:575-582, 1998
8. McBryde KD, Kershaw DB, Smoyer WE: Pediatric steroid-resistant nephrotic syndrome. *Curr.Probl.Pediatr.Adolesc.Health Care* 31:280-307, 2001
9. Niaudet P: Steroid-resistant idiopathic nephrotic syndrome and ciclosporin. *French Club of Pediatric Nephrology. Nephron* 57:481, 1991
10. Niaudet P: Treatment of childhood steroid-resistant idiopathic nephrosis with a combination of cyclosporine and prednisone. *French Society of Pediatric Nephrology. J.Pediatr.* 125:981-986, 1994

11. Niaudet P: Genetic forms of nephrotic syndrome. *Pediatr.Nephrol.* 19:1313-1318, 2004
12. Pelletier J, Bruening W, Li FP, Haber DA, Glaser T, Housman DE: WT1 mutations contribute to abnormal genital system development and hereditary Wilms' tumour. *Nature* 353:431-434, 1991
13. Plank C, Kalb V, Hinkes B, Hildebrandt F, Gefeller O, Rascher W: Cyclosporin A is superior to cyclophosphamide in children with steroid-resistant nephrotic syndrome-a randomized controlled multicentre trial by the Arbeitsgemeinschaft für Pädiatrische Nephrologie. *Pediatr.Nephrol.* 23:1483-1493, 2008
14. Ruf RG, Lichtenberger A, Karle SM, Haas JP, Anacleto FE, Schultheiss M, Zalewski I, Imm A, Ruf EM, Mucha B, Bagga A, Neuhaus T, Fuchshuber A, Bakkaloglu A, Hildebrandt F: Patients with mutations in NPHS2 (podocin) do not respond to standard steroid treatment of nephrotic syndrome. *J.Am.Soc.Nephrol.* 15:722-732, 2004
15. Srivastava T, Simon SD, Alon US: High incidence of focal segmental glomerulosclerosis in nephrotic syndrome of childhood. *Pediatr.Nephrol.* 13:13-18, 1999
16. Weber, S. Hereditary nephrotic syndrome, in *Comprehensive Pediatric Nephrology*, edited by Geary D. and Schaefer F. 2008. Elsevier.
17. Weber S, Gribouval O, Esquivel EL, Moriniere V, Tete MJ, Legendre C, Niaudet P, Antignac C: NPHS2 mutation analysis shows genetic heterogeneity of steroid-resistant nephrotic syndrome and low post-transplant recurrence. *Kidney Int.* 66:571-579, 2004
18. Weber S, Tonshoff B: Recurrence of focal-segmental glomerulosclerosis in children after renal transplantation: clinical and genetic aspects. *Transplantation* 80:S128-S134, 2005
19. Winn MP, Conlon PJ, Lynn KL, Farrington MK, Creazzo T, Hawkins AF, Daskalakis N, Kwan SY, Ebersviller S, Burchette JL, Pericak-Vance MA, Howell DN, Vance JM, Rosenberg PB: A mutation in the TRPC6 cation channel causes familial focal segmental glomerulosclerosis. *Science* 308:1801-1804, 2005