

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.901>

<https://orcid.org/0009-0005-2044-6346>

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Deimantė Braždžiūnaite

Genotipo ir fenotipo įvertinimas sergančiųjų cistinėmis inkstų ligomis grupėje

DAKTARO DISERTACIJA

Medicinos ir sveikatos mokslai,
medicina (M 001)

VILNIUS 2026

Disertacija rengta 2020–2025 metais Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Biomedicinos mokslų instituto Žmogaus ir medicininės genetikos katedroje.

Mokslinis vadovas – prof. dr. Algirdas Utkus (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Mokslinis konsultantas – prof. dr. Marius Miglinas (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Gynimo taryba:

Pirmininkas – prof. dr. Vytautas Kasiulevičius (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Nariai:

prof. dr. Jeroen Breckpot (Liuveno universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

doc. dr. Birutė Burnytė (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

doc. dr. Laurynas Rimševičius (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

prof. dr. Rasa Ugenskienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Disertacija ginama viešame Gynimo tarybos posėdyje 2026 m. balandžio 16 d. 13.00 val. Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Medicinos mokslo centre, Amfiteatrinėje auditorijoje. Adresas: Žaliųjų Ežerų g. 2, Vilnius, Lietuva.

Disertaciją galima peržiūrėti Vilniaus universiteto bibliotekoje ir VU interneto svetainėje adresu:

<https://www.vu.lt/naujienos/ivykiu-kalendorius>

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.901>

<https://orcid.org/0009-0005-2044-6346>

VILNIUS UNIVERSITY

Deimantė Braždžiūnaitė

Evaluation of Genotype and Phenotype in a Group of Patients with Cystic Kidney Diseases

DOCTORAL DISSERTATION

Medical and Health Sciences,
Medicine (M 001)

VILNIUS 2026

The dissertation was prepared between 2020 and 2025 at the Department of Human and Medical Genetics, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Vilnius University.

Academic supervisor – Prof. Dr. Algirdas Utkus (Vilnius University, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001).

Academic consultant – Prof. Dr. Marius Miglinas (Vilnius University, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001).

This doctoral dissertation will be defended in a public meeting of the Dissertation Defence Panel:

Chairperson – Prof. Dr. Vytautas Kasiulevičius (Vilnius University, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001).

Members:

Prof. Dr. Jeroen Breckpot (KU Leuven, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001),

Assoc. Prof. Dr. Birutė Burnytė (Vilnius University, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001),

Assoc. Prof. Dr. Laurynas Rimševičius (Vilnius University, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001),

Prof. Dr. Rasa Ugenskienė (Lithuanian University of Health Sciences, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001).

The dissertation shall be defended at a public meeting of the Dissertation Defence Panel at 1:00 p.m. on 16 April 2026 in the Amphitheatre Auditorium of Vilnius University Faculty of Medicine Medical Science Centre.

Address: Žaliųjų Ežerų 2, Vilnius, Lithuania.

The text of this dissertation can be accessed at the library of Vilnius University, as well as on the website of Vilnius University:

www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius

SANTRUMPOS

ACMG	– Amerikos medicininės genetikos ir genomikos kolegija (angl. <i>American College of Medical Genetics and Genomics</i>)
ADPIL	– autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga
ADPKL	– autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė kepenų liga
ADTIL	– autosominio dominantinio paveldėjimo tubulointerstininė inkstų liga
aGFG	– apskaičiuotasis glomerulų filtracijos greitis
ARPIL	– autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga
CAKUT	– įgimtos inkstų ir šlapimo takų anomalijos (angl. <i>congenital anomalies of the kidneys and urinary tract</i>)
HANAC	– paveldima angiopatija, nefropatija, aneurizmos ir raumenų mėšlungis (angl. <i>hereditary angiopathy-nephropathy-aneurysms-muscle cramps</i>)
Hmi	– hemizigotinis
Hmz	– homozigotinis
HNF1B-SL	– su <i>HNF1B</i> genu susijusi liga
Htz	– heterozigotinis
KSP	– kopijų skaičiaus pokytis
LIL	– lėtinė inkstų liga
MDIL	– multicistinė displastinė inkstų liga
MGCL	– molekulinės genetikos ir citogenetikos laboratorija
MLPA	– dauginė liguojamų zondų amplifikacija (angl. <i>multiplex ligation-dependent probe amplification</i>)
NKS	– naujos kartos sekoskaita
NPHP	– nefronoftizė (angl. <i>nephronophthisis</i>)
NPHP-SC	– su nefronoftize susijusi ciliopatija

NRV	– neaiškos reikšmės variantas
OMIM	– pagal Mendelio dėsnius paveldimų ligų elektroninis katalogas (angl. <i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>)
P	– patogeninis
PAX2-SL	– su <i>PAX2</i> genu susijusi liga
PIL	– policistinė inkstų liga
PKDB	– autosominio dominantinio paveldėjimo policistinės inkstų ligos variantų duomenų bazė
SC	– susijusi ciliopatija
SL	– susijusi liga
SRP	– skaitymo rėmelio poslinkio
TP	– tikėtina patogeninis
TSK	– tuberozinės sklerozės kompleksas
VNP-LGH	– vieno nukleotido polimorfizmo lyginamoji genomo hibridizacija
VUL SK	– Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos
ŽSGS	– židininė segmentinė glomerulosklerozė

TURINYS

1.	ĮVADAS	10
1.1.	Tyrimo tikslas	11
1.2.	Tyrimo uždaviniai.....	12
1.3.	Darbo naujumas, aktualumas ir reikšmė	12
2.	LITERATŪROS APŽVALGA	13
2.1.	Inkstų raidos genetinė architektūra	13
2.2.	Inkstų cistų fenotipinė įvairovė.....	16
2.3.	Cistinių inkstų ligų heterogeniškumas	19
2.3.1.	Ciliopatijos.....	21
2.3.2.	Įgimtos inkstų ir šlapimo takų anomalijos.....	24
2.3.3.	Kitos paveldimos inkstų ligos, kai yra inkstų cistų	24
2.4.	Genetinė inkstų ligų diagnostika šiuolaikinėje medicinoje.....	25
3.	DARBO METODOLOGIJA	28
3.1.	Tyrimo schema	28
3.2.	Tiriamieji	29
3.3.	Genetinis ištyrimas.....	29
3.3.1.	DNR išskyrimas.....	29
3.3.2.	Naujos kartos sekoskaita.....	29
3.3.3.	Inkstų ligų genų rinkinio analizė	30
3.3.4.	Dauginė liguojamų zondų amplifikacija.....	31
3.3.5.	VNP lyginamoji genomo hibridizacija	32
3.3.6.	Sangerio sekoskaita	32
3.3.7.	Variantų atranka	33
3.4.	Klinikinių duomenų analizė.....	33
3.5.	Statistinė analizė	34
4.	REZULTATAI	36
4.1.	Cistinių inkstų ligų genetinė struktūra tiriamoje pacientų grupėje	38
4.1.1.	Struktūriniai genomo variantai	39

4.1.2. Segregacijos analizė	42
4.2. Specifinio ir nespecifinio inkstų cistų fenotipo grupių palyginimas.....	43
4.3. Sergančiųjų autosominio dominantinio paveldėjimo policistine inkstų liga grupės įvertinimas.....	49
4.3.1. ADPIL grupės genotipinių ir fenotipinių variantų įvertinimas	52
4.3.2. Pacientams nustatytų naujų tikėtina patogeninių variantų ir jų fenotipų charakterizavimas	58
4.3.3. Pacientams nustatytų neaiškos klinikinės reikšmės variantų ir jų fenotipų charakterizavimas.....	66
4.3.4. Pacientų, kuriems nustatyta genetinė ADPIL diagnozė, klinikinių požymių apibendrinimas	68
4.3.5. Autosominio dominantinio paveldėjimo policistinės inkstų ligos klinikinių variantų įvairovę papildantys atvejai	70
4.4. <i>PKD1/PKD2</i> genų variantų poveikio fenotipui įvertinimas	73
4.5. Ne ADPIL genotipų ir klinikinių variantų charakterizavimas	80
4.5.1. Su <i>PAX2</i> genu susijusios ligos genotipų ir fenotipų charakterizavimas	84
4.5.2. Su <i>HNF1B</i> genu susijusios ligos genotipų ir fenotipų charakterizavimas	86
4.5.3. Su nefronoftize susijusių ciliopatijų genotipų ir fenotipų charakterizavimas	87
4.5.4. Tuberozinės sklerozės komplekso genotipo ir fenotipo charekterizavimas	89
4.5.5. Alporto sindromo genotipų ir fenotipų charakterizavimas .	89
4.5.6. HANAC sindromo genotipo ir fenotipo charakterizavimas	91
4.5.7. Autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinės inkstų ligos genotipo ir fenotipo charakterizavimas	91
REZULTATŲ APTARIMAS	93
IŠVADOS.....	100
REKOMENDACIJOS.....	101
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	102

PRIEDAS	116
SUMMARY	122
APIE AUTOREŲ	170
PADĒKA.....	172
DARBO APROBACIJA	173

1. ĮVADAS

Genetinės inkstų ligos yra vienos dažniausių ankstyvos lėtinės inkstų ligos (LIL) priežasčių ir lemia daugiau nei 10–15 proc. inkstų pakaitinės terapijos reikalaujančių atvejų (1). Cistinės inkstų ligos sudaro didžiausią genetinių inkstų ligų dalį ir siejamos su mažiausiai 100 genų. Šiai grupei priklausanti autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga (ADPIL) yra viena dažniausių pagal Mendelio dėsnius paveldimų ligų (2, 3).

Pagerėjęs didelio našumo sekoskaitos technologijų prieinamumas lėmė reikšmingą proveržį ir inkstų ligų genetikos srityje. Platus šių tyrimo metodų pritaikymas inkstų ligų diagnostikoje ir moksliniuose tyrimuose pakeitė ligų fenotipų ir kategorijų ribų supratimą, taip pat suteikė naujų etiologinių įžvalgų (4). Airijoje vykdyto tyrimo metu LIL sergantiems suaugusiems pacientams atlikus viso egzomo sekoskaitą, molekulinė diagnozė nustatyta 37 proc. atvejų, iš kurių didžiausią dalį (19 proc.) sudarė cistinės inkstų ligos (5). Kitame tyrime įgimtos ar cistinės inkstų ligos taip pat sudarė didžiausią genetinių diagnozių dalį (23,9 proc.) (6).

Molekulinė diagnozė tampa vis reikšmingesnė gydymo prognozę analizuojantiems tyrimams ir efektyviam atsirandančių specializuoto gydymo galimybių taikymui. Han ir kt. nagrinėjo genetinėmis inkstų ligomis sergančių pacientų, gaunančių pakaitinę inkstų terapiją, ilgalaikius rezultatus. Inkstų transplantacijos recipientams, sergantiems genetinė inkstų liga, nustatyta mažesnė 10-ies metų mirtingumo rizika, palyginti su sergančiaisiais kitomis inkstų ligomis. Ypač tai atspindėjo policistinės inkstų ligos pogrupyje (7). Svarstant skirti gydymą tolvaptanu, svarbu įvertinti prognozę, kaip greitai progresuos liga, o tam įtakos gali turėti tam tikri genetiniai variantai (8). Taip pat svarbu identifikuoti atipinius ligos atvejus, kuriems toks gydymas nepadarytų didesnio poveikio (9).

Paveldimos cistinės inkstų ligos, nors ir nulemtos genetinių pokyčių, dažniausiai pirmiausia diagnozuojamos pagal klinikinius požymius. Tačiau klinikinė diagnostika ne visada paprasta dėl ligų tarpusavio panašumų, todėl ne kartą įrodyta genetinių tyrimų svarba tikslios diagnozės nustatymui. Pavyzdžiui, Bullich ir kt. pademonstravo, jog tikslinė inkstų ligų genų sekoskaita cistinių inkstų ligų grupėje bent 16 proc. atvejų atskleidė visai naują ar kitokią diagnozę, nei buvo nustatyta klinikinė diagnozė (10). Svarbu ir tai, kad ekstrarenaliniai požymiai ne visada koreliuoja su inkstų pažeidimu. Dažniausios cistinės inkstų ligos, ADPIL, stebėjimai ir genetiniai tyrimai suteikė daug naujų įžvalgų. Pavyzdžiui, policistinė kepenų liga, lydinti ADPIL, ne visada tiesiogiai siejasi su inkstų ligos sunkumu (11). Todėl galima manyti, kad modifikuojantys genetiniai veiksniai ar genų dozės poveikis

ADPIL atveju gali turėti įtakos tiek inkstų, tiek ekstrarenaliniams fenotipams (12). Tai lėmė išaugusį susidomėjimą ne tik genetiniais, bet ir epigenetiniais mechanizmais (13–15). Be to, yra ir atipinių ADPIL formų, kurios gana neseniai identifikuotos ir analizuotos kaip atskira grupė, pasižyminti savitomis klinikinėmis ir genetinėmis charakteristikomis (16). Nors *PKD1* ir *PKD2* genai su ADPIL susieti atitinkamai 1985 m. ir 1996 m. (17, 18), prirėkė dar mažiausiai 20-ies metų, kad į ligos priežasčių sąrašą būtų įtraukti *GANAB*, *DNAJB11*, *ALG5*, *NEK8* genai (19–22). Taip pat yra aprašyta įvairių ADPIL fenokopijų atvejų (23–25). Tačiau 5–10 proc. ADPIL pacientų genetinė priežastis vis dar nenustatyta (26, 27). Tai leidžia manyti, jog vienos iš dažniausių paveldimų ligų genetinis heterogeniškumas dar nėra visiškai atskleistas, todėl tolesnis paveldimų cistinių inkstų ligų kohortos kūrimas išlieka aktualus.

Pagal PubMed duomenų bazės paiešką, naudojant raktažodžius „*cystic kidney*“ ir „*next-generation sequencing*“, matyti, kad naujos kartos sekoskaita (NKS) cistinių inkstų ligų (su nefronoftize susijusių ciliopatijų) tyrimams eksperimentiniu lygmeniu pradėta taikyti apie 2010 m. (28). Po kelerių metų mokslinėje literatūroje jau buvo diskutuojama apie šio metodo integravimą į personalizuotos medicinos praktiką, diagnozuojant paveldimas inkstų ligas (29). Lietuvoje NKS metodai tikslingai inkstų ligų genetiniam ištyrimui pradėti taikyti 2017 m., tačiau tyrimų apimtys išliko ribotos ir siekė vos kelis atvejus per metus. Tikėtina, kad tai lėmė nepakankamos gydytojų žinios apie genetinių tyrimų diagnostines galimybes bei retų paveldimų inkstų ligų spektrą, ypač suaugusiųjų populiacijoje. Atsižvelgiant į tai, šiuo darbu buvo siekiama prisidėti prie paveldimų inkstų ligų genetinio ištyrimo plėtros Lietuvoje. Pagrindinis darbo tikslas buvo nustatyti dažniausias ir retas genetines priežastis daugybinės inkstų cistas turinčių pacientų grupėje, taikant NKS metodą. Taip pat tikėjimės nustatyti atipinių ADPIL atvejų ir šios ligos fenokopijų.

1.1. Tyrimo tikslas

Įvertinti fenotipinių ir genotipinių variantų įvairovę asmenims, kuriems yra daugybinių inkstų cistų, ir nustatyti genotipo ir fenotipo ryšį *PKD1*/*PKD2* grupėje.

1.2. Tyrimo uždaviniai

1. Ištirti su cistinėmis inkstų ligomis siejamus genus ir charakterizuoti ligų genetinę struktūrą tiriamoje pacientų grupėje.
2. Palyginti specifinio ir nespecifinio inkstų cistų fenotipo grupių genetinius bei klinikinius rodiklius.
3. Išanalizuoti autosominio dominantinio paveldėjimo policistine inkstų liga sergančių pacientų genotipus bei klinikinio pasireišimo variantus.
4. Įvertinti pacientų, kuriems nustatyti baltymą trumpinantys ir baltymo netrumpinantys variantai *PKD1* ir *PKD2* genuose, fenotipą.
5. Charakterizuoti klinikinio pasireišimo variantus pacientams, kuriems nustatyta ne autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga.

1.3. Darbo naujumas, aktualumas ir reikšmė

Iki šiol Lietuvoje nebuvo atlikta mokslinių tyrimų, skirtų cistinių inkstų ligų genetinių priežasčių analizei, o šių ligų genetinis ištyrimas klinikinėje praktikoje buvo taikomas itin retai. Šiuo darbu buvo siekiama nustatyti ligų, pasireiškiančių daugybinėmis inkstų cistomis, dažniausias ir retesnes genetines priežastis bei įvertinti jų pasiskirstymą tiriamųjų populiacijoje. Charakterizavus klinikinius fenotipus ir nustatytus genetinius pakitimus, buvo siekiama pateikti įžvalgas ir genetinio ištyrimo rekomendacijas, kurios būtų naudingos teikiant asmens sveikatos priežiūros paslaugas pacientams.

Darbo metu pirmą kartą Lietuvoje buvo suformuota cistinėmis inkstų ligomis sergančių pacientų kohorta ir atliktas genetinis jos ištyrimas. Mūsų žiniomis, Lietuvoje ar kitose Baltijos šalyse iki šiol nėra publikuota tyrimų, kuriuose būtų sistemingai vertinamas cistinėmis inkstų ligomis sergančių pacientų genotipas ir fenotipas. Tyrimo metu nustatyti unikalūs ir nauji patogeniniai bei tikėtinais patogeniniai genetiniai variantai suteikė naujų žinių apie cistinių inkstų ligų genetinę etiologiją. Tiriamųjų fenotipų vertinimas leido pateikti įžvalgų apie rečiau pasitaikančius klinikinius variantus ir jų fenotipinį heterogeniškumą. Be to, gauti duomenys apie neaiškos klinikinės reikšmės genetinius variantus sudarė prielaidas įtarti galimą dalies jų patogeniškumą.

2. LITERATŪROS APŽVALGA

2.1. Inkstų raidos genetinė architektūra

Inkstai yra sudėtingi ir vieni svarbiausių homeostazę palaikančių organų, kurie užtikrina skysčių bei elektrolitų, taip pat kraujospūdžio reguliavimą. Pagrindinis inksto struktūrinis ir funkcinis vienetas yra nefronas, o kiekvieną inkstą sudaro apie vienas milijonas nefronų, sudarytų iš daugiau nei 20 skirtingų specializuotų ląstelių, įskaitant podocitus, proksimalinių ir distalinių kanalėlių, Henlės kilpos, jungiamojo kanalėlio ląsteles (30). Kiekvienas nefronas susideda iš glomerulo ir kanalėlių sistemos. Glomerulas filtruoja kraują, o kanalėliai grąžina reikalingas ir pašalina nereikalingas medžiagas iš kraujo. Nefronai susidaro tik nefrogenezės metu, o naujų nefronų formavimasis žmogui tęsiasi iki 36 nėštumo savaitės (31).

Inkstų embrioninis vystymasis yra vienas sudėtingiausių žmogaus organogenezės procesų, apimantis tiksliai koordinuotą genų raiškos, signalinių kelių ir ląstelių tarpusavio sąveikos veikimą. Inkstai pradeda vystytis maždaug trečią embriono vystymosi savaitę iš tarpinės mezodermos, kuri segmentiškai pasidalija į mažas ląstelių mases, nefrotomus, kaklo bei krūtinės ir juosmens srityse. Likusi uodeginė tarpinės mezodermos dalis tampa nefrogenine mase.

Inkstų vystymasis pereina tris raidos stadijas. Iš dalies nefrotomų susiformuoja priešinkstis (*pronephros*), neatliekantis išskiriamosios funkcijos, vėliau iš kitų nefrotomų susiformuoja trumpai funkcionuojantis pirminis inkstas (*mesonephros*), o 5-ą savaitę pradeda formuotis galutinis inkstas (*metanephros*), išliekantis kaip nuolatinis suaugusiojo inkstas. Galutiniame inkste iš nefrogeninės masės susidaro nefronai, o surenkamieji kanalėliai, taurelės, geldelės bei šlapimtakiai formuojasi iš pirminio inksto latako (*ductus mesonephricus*) divertikulo.

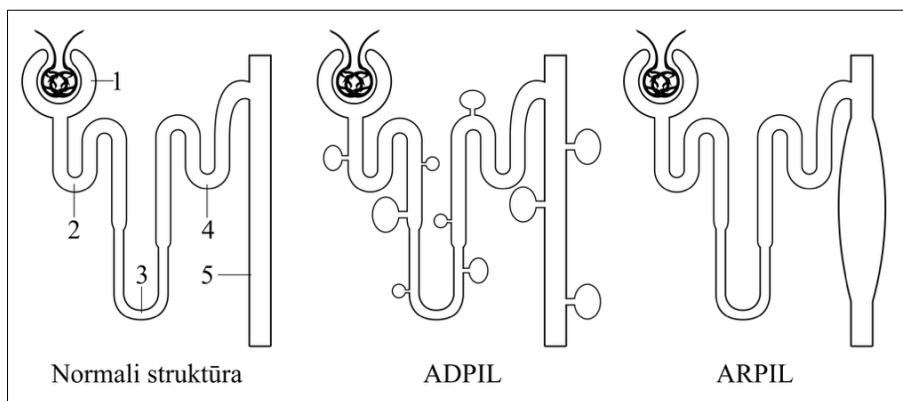
Pats galutinis inkstas atsiranda kaip šlapimtakio užuomazga (angl. *ureteric bud*) pirminio inksto latako kaudaliniame gale. Ši užuomazga šakojasi ir formuoja šlapimtakį, inksto geldelę, taureles ir surenkamuosius kanalėlius. Šlapimtakio užuomazga atsakinga už daugumą signalinių procesų, lemiančių nefronų susidarymą ir jų kiekį. Šio proceso metu šlapimtakio užuomazga įauga į tarpinę mezodermą ir siunčia signalus aplinkinėms ląstelėms, kurios ant užuomazgos suformuoja metanefrinę kepurėlę (angl. *metanephric cap*). Būtent šių dviejų struktūrų molekulinė komunikacija užtikrina inksto architektūros ir funkcinių vienetų susidarymą. Metanefrinė kepurėlė virsta nefronais, kurie susijungia su surenkamaisiais kanalėliais (32, 33).

Inksto struktūrų formavimuisi ypatingą reikšmę turi transkripcijos faktoriai, tokie kaip Hox (*homeobox*) paralogai, LIM1 (*LIM-class*

homeodomain1), *OSR1* (*odd skipped related 1*), *PAX2/8* (*paired box protein 2/8*), *EYA1* (*eyes absent 1*), koordinuojantys ankstyvą inksto raidą ir specifikaciją (34). Šie procesai lemia bent kelių pirmtakių ląstelių populiacijų atsiradimą nefrogeninėje nišoje: nefrono pirmtakių ląstelių, šlapimtakio užuomazgos pirmtakių ląstelių, stromos pirmtakių ląstelių ir endotelio pirmtakių ląstelių. Koordinuota šių populiacijų tarpusavio sąveika lemia visų inkstų ląstelių tipų diferenciaciją (35–37).

Nefrono pirmtakių ląstelių proliferacijos, diferenciacijos koordinavimui svarbūs transkripcijos faktoriai *CITED1*, *PAX2*, *EYA1*, *SIX2*, *SALL1* ir *WT1*, koduojami atitinkamų genų (38). Įvairių genų svarba atsispindi ir ligų modeliuose. Pavyzdžiui, *EYA1*, *SIX2* genų patogeniniai variantai lemia branchiootorenalinį sindromą, kuriam būdingos įvairios inkstų vystymosi anomalijos, įskaitant multicistinį displastinį inkstą (39). Heterozigotiniai patogeniniai variantai *PAX2* gene lemia inkstų ir kolobomos sindromą ar izoliuotą nefropatiją. O su homozigotinėmis *PAX2* mutantėmis pelėmis atlikti tyrimai lėmė jų ankstyvą postnatalinę mirtį, joms buvo neišsivystę inkstai, šlapimtakiai ir akys (40).

Normaliai inkstų kanalėlių morfogenezei svarbūs ir *PKD1*, *PKD2*, *PKHD1* genai. Jų koduojami baltymai, kartu su kitais baltymais, inkstų epitelio ląstelėse formuoja didelius multimerinius „cistoproteinų kompleksus“, būtinus normaliam kanalėlių augimui ir diferenciacijai. Šiuos kompleksus modifikuojantys genų variantai sutrikdo sudėtingų signalinių kelių veiklą ir lemia policistinės inkstų ligos vystymąsi (41). Sutrikusi inkstų kanalėlių morfogenezė dėl cistų formavimosi pavaizduota 1 pav.



1 pav. Cistų formavimasis inkstų kanalėliuose.

1 – Baumanos kapsulė; 2 – proksimalinis vingiuotasis kanalėlis; 3 – Henlės kilpa; 4 – distalinis vingiuotasis kanalėlis; 5 – surenkamasis kanalėlis; ADPIL – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga; ARPIL – autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga. Adaptuota pagal Bergman et al., 2018 (42).

Šiuo metu su sutrikusiu inkstų vystymusi ir cistogeneze siejami įvairių genų funkcijos sutrikimai, kurie pasireiškia nevienodu dažniu. Naudojantis populiacijos viso egzomo ir genomo sekoskaitos duomenų bazėmis (gnomAD ir BRAVO) nustatytas minimalus baltymų trumpinančių variantų paplitimas įvairiuose su cistogeneze siejamuose genuose (1 lentelė).

1 lentelė. Minimalus baltymų trumpinančių variantų paplitimas įvairiuose su cistogeneze siejamuose genuose (43).

Genas	Minimalus paplitimas	Galima funkcija cistogenezėje	Susijusi liga
<i>PKD1</i>	1 iš 1477	Policistinas 1; juda iš ET į blakstienėles kartu su policistinu 2; tiksli funkcija nežinoma	ADPIL
<i>PKD2</i>	1 iš 3914	Policistinas 2; kalciumi pralaidus nespecifinis katijonų kanalas; sudaro kompleksą su policistinu 1	ADPIL
<i>GANAB</i>	1 iš 4379	Gliukozidazės II α subvienetas; ET fermentas, katalizuojantis su peptidais sujungtų oligosacharidų hidrolizę	ADPIL
<i>DNAJB11</i>	1 iš 12 312	ET glikoproteino kofaktorius GRP78, būtinas baltymų pernešimui	ADPIL
<i>ALG9</i>	1 iš 6156	α -1,2-manoziltransferazė; fermentas, reikalingas baltymų N-glikozilnimui	ADPIL
<i>PRKCSH</i>	1 iš 2077	Baltymų kinazės C substratas; ET fermentas, katalizuojantis su peptidais sujungtų oligosacharidų hidrolizę	ADPKL
<i>SEC63</i>	1 iš 4684	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> homologas 63; kartu su SEC61 ir GRP78 padeda atlikti ET baltymų pernašą	ADPKL
<i>SEC61B</i>	1 iš 14 385	<i>S. cerevisiae</i> homologas 61, β subvienetas; membraninio baltymų pernašos kanalo šerdis	ADPKL
<i>ALG8</i>	1 iš 1429	α -3-gliukoziltransferazė; fermentas, reikalingas baltymų N-glikozilnimui	ADPKL
<i>LRP5</i>	1 iš 3099	Su LDL receptoriu susijęs baltymas 5; koreceptorius, būtinas kanoniniam Wnt signalinimui	ADPKL

1 lentelės tęsinys

Genas	Minimalus paplitimas	Galima funkcija cistogenezėje	Susijusi liga
<i>TSC1</i>	1 iš 11 188	Hamartinas; palengvina HSP90, kaip šaperono, veikimą baltymų, įskaitant tuberiną, gamyboje; neigiamas mTORC1 reguliatorius, neigiamai reguliuoja mTORC1	TSK
<i>TSC2</i>	1 iš 2919	Tuberinas; aktyvina GTPazę, slopinančią mTORC1	TSK
<i>VHL</i>	1 iš 3301	VHL naviko supresorius; dalyvauja deguonies jutime, mikrovamzdelių orientacijoje, naviko slopinime	VHL
<i>COL4A1</i>	1 iš 5594	IV tipo kolageno $\alpha 1$ grandis; bazinės membranos komponentas	HANAC
<i>PKHD1</i>	1 iš 201 993	Fibrocistinas; ne katalitinis gliukozidazės II β subvienetas	ARPIL
<i>DZIP1L</i>	~1 iš 3 mln.	Su DAZ sąveikaujantis cinko piršto baltymas 2; lokalizuojasi pereinamojoje blakstienėlių zonoje	ARPIL
<i>PMM2</i>	~1 iš 3 mln.	Fosfomanomutazė 2; su sumažėjusiu N-glikoziliniu susijusi promotoriaus mutacija	HIPIL

Santrumpos: ET – endoplazminis tinklas; ADPIL – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga; ADPKL – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė kepenų liga; ARPIL – autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga; HIPIL – hiperinsulineminė hipoglikemija ir policistinė inkstų liga; TSK – tuberozinės sklerozės kompleksas; VHL – von Hippelio ir Lindau liga; HANAC – paveldima angiopatija, nefropatija, aneurizmos ir raumenų mėšlungis (angl. *hereditary angiopathy-nephropathy-aneurysms-muscle cramps*).

2.2. Inkstų cistų fenotipinė įvairovė

Inkstų cistos yra vieni dažniausiai pasitaikančių darinių inkstuose. Jos gali pasireikšti kaip židininis darinys (paprastos ir sudėtingos inkstų cistos), paveikti visą inkstą (pvz., multicistinis displastinis inkstas) arba būti aptinkamos kaip abipusė cistinė liga (pvz., autosominio recesyviojo ar dominantinio tipo policistinė inkstų liga).

Šiuo metu nėra vienos standartizuotos ir paprastos inkstų cistų bei cistinių ligų klasifikacijos, o skirtingi autoriai neretai išskiria įvairių cistų fenotipų skaičių. Tačiau, pirmiausia iš klinikinės perspektyvos, o vėliau atsižvelgiant į pažangą genetikos srityje ir paveldimų inkstų ligų etiologijos atradimus, pasiūlyta inkstų cistas klasifikuoti į negenetines ir genetines (44, 45). Kai

kuriose schemose cistos skirstomos į įgytas, inkstų vystymosi sutrikimo bei paveldimas (46). Negenetinės įgytos cistos dažniausiai yra pavienės, sporadinės ir paprastai būna vienpusės, o genetinės cistinės ligos dažniausiai yra abipusės ir pasižymi ne vieno organo pažeidimu. Toliau pateikta supaprastinta klasifikacija, apibūdinanti pagrindinius inkstų cistų fenotipus (adaptuota pagal: Kabaalioğlu ir MacLennan, 2013; Waterman, 2014) (45, 46). Fenotipai iliustruoti 2 pav.

Įgytos inkstų cistos:

1. **Paprasta cista** (angl. *simple cyst*). Manoma, kad paprastos žievinės dalies cistos susiformuoja dėl surenkamųjų kanalėlių obstrukcijos. Įgytos paprastos cistos dažnos lėtine inkstų liga sergantiems pacientams, ypač ilgai dializuojamiems, taip pat dažnis didėja su amžiumi. Parapelvinių cistų kilmė greičiausiai limfinė arba jos išsivysto iš embriologinių likučių.
2. **Sudėtinga cista** (angl. *complex cyst*). Tai paprasta cista, kurios turinyje yra kraujo, infekcija ar nuosėdų. Sudėtingų cistų vertinimui plačiai taikoma Bosniako klasifikacija, kuri apima cistinius darinius nuo paprastos cistos iki solidinės cistinės masės.
3. **Cistinė neoplazija**. Gerybinė ar piktybinė neoplazija, kurios masėje yra cistinių komponentų. Pavyzdžiui, gerybinė cistinė nefroma, cistinė inkstų ląstelių karcinoma.

Cistos dėl sutrikusio inkstų vystymosi:

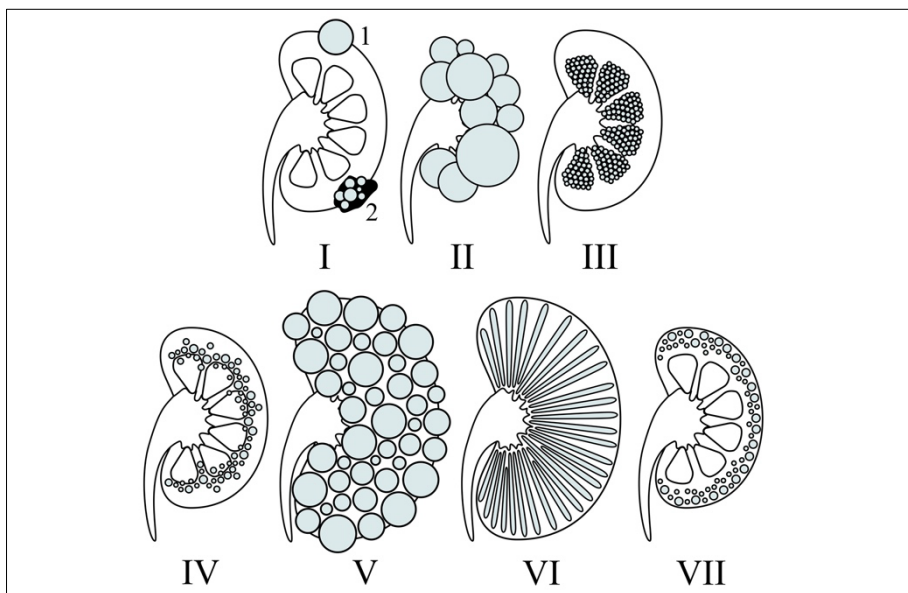
1. **Multicistinis displastinis inkstas** (angl. *multicystic dysplastic kidney*). Dažniausiai vienpusė inkstų vystymosi anomalija, kai inkstas būna mažas, netaisyklingos formos, sudarytas iš daugybinių įvairaus dydžio cistų, be normalios parenchimos.
2. **Šerdinės dalies kempininis inkstas** (angl. *medullary sponge kidney*). Susiformuoja dėl distalinių surenkamųjų kanalėlių išsiplėtimo vienoje ar keliose piramidėse; gali būti abipusis, vienpusis arba segmentinis. Šiuose kanalėliuose dažnai susidaro akmenys.

Genetinės cistinės inkstų ligos:

1. **Nefronoftizė ir šerdinės dalies cistinė liga** (angl. *nephronophthisis-medullary cystic disease*). Abiejuose inkstuose plonasiinės šerdinės cistos, daugiausia ties kortikomeduline jungtimi. Būdinga, kad inkstų dydis normalus ar vidutiniškai mažas.
2. **Autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga** (angl. *autosomal dominant polycystic kidney disease*). Cistos susidaro

išsiplečiant įvairioms inkstų kanalėlių dalims, nuo kurių cistos ilgainiui atsijungia. Būdinga abipusė nefromegalija, kai yra nesuskaičiuojama daugybė įvairaus dydžio cistų, suspausta parenchima ir nelygus paviršius.

3. **Autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga** (angl. *autosomal recessive polycystic kidney disease*). Cistos susidaro išsiplečiant surenkamiesiems kanalėliams. Jos sąlyginai vienodo dydžio ir tęsiasi radialiai per šerdinę ir žievinę dalį. Būdinga abipusė nefromegalija be kortikomedulinės diferenciacijos, lygiu paviršiumi.
4. **Glomerulocistinė inkstų liga** (angl. *glomerulocystic kidney disease*). Smulkios cistos susidaro inkstų žievinėje dalyje, daugiausia po kapsule, dėl išsiplėtusios Baumano (*Bowman*) kapsulės ertmės ir prasiplėtusių proksimalinių kanalėlių. Inkstai gali būti normalaus dydžio ar padidėję.
5. **Cistos, susijusios su daugiasistemiu sindromu**. Abipusės daugybinės inkstų cistos gali būti sindromo, pažeidžiančio daug organų sistemų, dalis. Pavyzdžiui, tuberozinės sklerozės kompleksas, von Hippelio ir Lindau liga, Meckelio ir Gruberio sindromas.

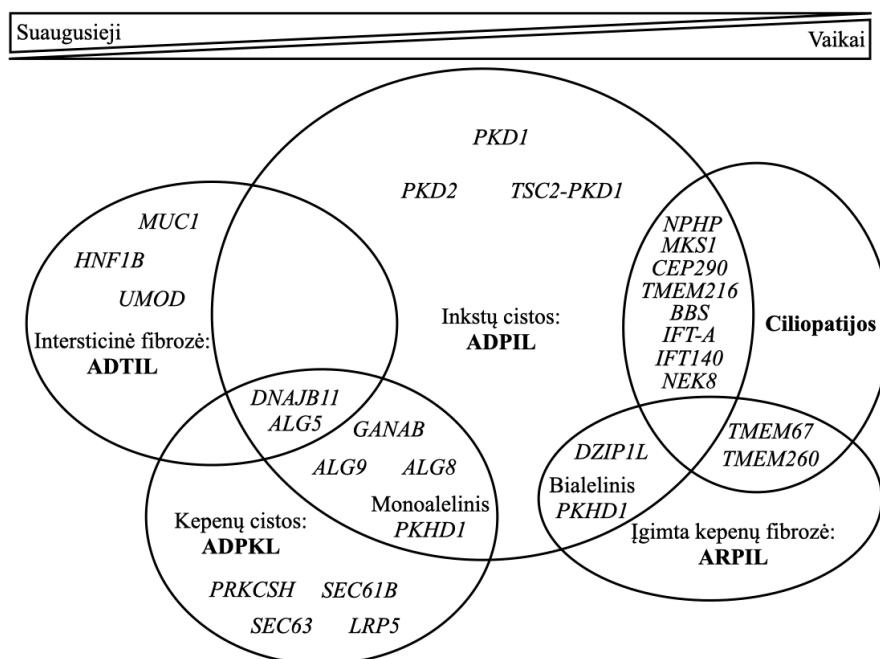


2 pav. Inkstų cistų fenotipai.

I-1 – paprasta cista; I-2 – cistinė neoplazija; II – multicistinis displastinis inkstas; III – šerdinės dalies kempininis inkstas; IV – nefroftizė-šerdinės dalies cistinė liga; V – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga; VI – autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga; VII – glomerulocistinė inkstų liga.

2.3. Cistinių inkstų ligų heterogeniškumas

Paveldimos cistinės inkstų ligos apima įvairių genetinių sutrikimų, kuriems būdingas cistų susidarymas inkstuose, dažnai sukeliantis inkstų funkcijos sutrikimą, grupę. Šiai grupei priskiriamoms įvairioms ligoms bei sindromams būdingas didelis genetinis heterogeniškumas ir neretai tarp ligų sutampantys inkstų fenotipo bei ekstrarenaliniai požymiai, o pasireiškimo amžius ir sunkumas – įvairūs. Ligų genetinis heterogeniškumas ir tarpusavio sąsajos schemiškai pavaizduoti 3 pav.



3 pav. Cistinių inkstų ligų genetinis heterogeniškumas.

ADPIL – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga; ADPKL – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė kepenų liga; ADTIL – autosominio dominantinio paveldėjimo tubulointerstinė inkstų liga; ARPIL – autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga. Adaptuota pagal Hanna et al., 2023 (47).

Paveldimos inkstų ligos gali būti klasifikuojamos įvairiais principais, pavyzdžiui, monogeninės ir poligeninės, glomerulų ir kanalėlių, taip pat struktūrinės ir funkcinės ligos. Šiame kontekste svarbiausios cistinės inkstų ligos priskiriamos inkstų augimo ir struktūros sutrikimams, kurie detaliau skirstomi į ciliopatijas bei įgimtas inkstų ir šlapimo takų anomalijas (apibendrinta klasifikacija pateikiama 2 lentelėje) (48).

2 lentelė. Genetinės struktūrinės ir funkcinės inkstų ligos.

Genetiniai inkstų augimo ir struktūros sutrikimai	Genetiniai inkstų funkcijos sutrikimai
<i>Ciliopatijos</i> ADPIL, 1 ir 2 tipai ARPIL Nefronoftizė Šerdinės dalies cistinė inkstų liga Jouberto sindromas Meckelio ir Gruberio sindromas Bardet ir Biedlo sindromas Alströmo sindromas Sensenbrennerio sindromas (kranioektodermos displazija) Orofaciodigitalinis sindromas 1 Ivemarko sindromas Trumpų šonkaulių ir polidaktilijos sindromas Elliso ir van Creveldo sindromas <i>Ilgimos inkstų ir šlapimo takų anomalijos</i> Inkstų agenezė Inkstų hipoplazijos / displazijos sindromas Multicistinė inkstų displazija Vezikoureterinis refliuksas Branchiootorenalinis sindromas Fraserio sindromas Hipoparatiroidizmo, kurtumo, inkstų sindromas Kallmano sindromas Inkstų ir kolobomos sindromas Inkstų cistų ir diabeto sindromas Skilusios rankos / pėdos malformacija Townes-Brocks sindromas	<i>Glomerulų ligos</i> Įgimtas SRNS (suomių tipas) SRNS 2, 3 ir 4 tipai Piersono sindromas SRNS, suaugusiųjų pradžios Denyso ir Drasho sindromas, Fraserio sindromas Nagų ir girmelės sindromas Mitochondrinės ligos su SRNS Lizosominės ligos su SRNS Alporto sindromas Alporto sindromas su lejomiomatoze Schimke'ės imuninė-kaulinė distrofija Šeiminė amiloidozė <i>Inkstų kanalėlių ir metabolinės ligos</i> Inkstų gliukozurija Aminoacidurijos Proksimalinių inkstų kanalėlių acidozė Hipofosfateminis rachitas Cistinozė Lowe sindromas Bartterio sindromas Gitelmano sindromas Liddle sindromas Gordono sindromas Pseudohipoaldosteronizmas, 1 ir 2 tipai SeSAME sindromas Distalinių inkstų kanalėlių acidozė Cukrinis diabetas, nefrogeninis Fabry liga <i>Inkstų akmenligė</i> Cistinurija – Dento liga – lizinurinis nepakantumas baltymui Pirminė hiperoksalurija, 1, 2 ir 3 tipai Adenino fosforibozil-transferazės stoka Ksantinurija – distalinių inkstų kanalėlių acidozė

Paaiškinimai: ADPIL – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga; ARPIL – autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga; SRNS – steroidams atsparus nefrozinis sindromas; SeSAME – traukuliai, neurosensorinis klausos sutrikimas, ataksija, intelektinė negalia, elektrolitų disbalansas.

2.3.1. Ciliopatijos

Daugelis paveldimų inkstų ligų pasireiškia kaip inkstų ciliopatijos – sutrikimai, atsirandantys dėl pakitusios pirminių blakstienėlių struktūros ar funkcijos.

Pirminės blakstienėlės (*cilia*) yra į plauką panašios, specializuotos jutiminės organelės, išsikišusios iš daugelio tipų ląstelių viršūninio paviršiaus. Jos atlieka svarbų vaidmenį vystantis audiniams ir perduodant signalus, o su blakstienėlėmis siejama daugiau kaip 950 genų, kurių patogeniniai variantai gali lemti žmogaus ligas, bendrai vadinamas ciliopatijomis (49). Bent 100 šių genų yra susiję su inkstų cistų susidarymu (2). Tai sisteminės ligos, dažnai pažeidžiančios inkstus ir įvairias kitas sistemas, nes pirminės blakstienėlės paplitusios visame organizme ir dalyvauja daugelio organų veikloje (50).

Autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga

Tai dažniausia paveldima inkstų liga, sisteminė ciliopatija, kuriai būdingas abipusis daugybės inkstų cistų augimas ir inkstų tūrio didėjimas. Liga, kurios dažnis 1 iš 1000, sudaro apie 10 proc. galutinės stadijos lėtinės inkstų ligos atvejų (43). Nors ADPIL yra sisteminė liga, pagrindinis jos požymis yra suaugusiųjų amžiuje prasidedantis abipusis inkstų cistų didėjimas, sukeliantis uždegimą, hipertenziją ir progresuojantį inkstų funkcijos sutrikimą. Pagrindinis su inkstais nesusijęs požymis yra policistinė kepenų liga, pasireiškianti iki 94 proc. vyresnių negu 35 metų pacientų (51). Šios ligos pacientų grupėje taip pat didesnis intrakranijinių aneurizmų dažnis, siekiantis apie 8–12 proc. (52), ir beveik 5,5 karto didesnė aortos aneurizmos ir disekacijos rizika, palyginti su nesergančiais ADPIL (53).

Dažniausia genetinė ADPIL priežastis – patogeniniai *PKD1* geno variantai (1 tipo liga) – lemia 75–80 proc. atvejų, 10–15 proc. pacientų nustatomi patogeniniai variantai *PKD2* gene (2 tipo liga), tačiau iki 10 proc. pacientų *PKD1/2* genų variantai nenustatomi, o tai leido įtarti egzistuojant genetinį heterogeniškumą (54). Vėliau buvo nustatyti patogeniniai variantai ir *GANAB* gene, siejamame su lengvesniu ligos fenotipu, bei variantai *ALG5*, *IFT140*, *NEK8* genuose (19, 20, 22, 55). Taip pat nustatytos policistinės inkstų ligos fenokopijos dėl genetinių variantų kituose genuose, kaip antai *HNF1B*, *PKHD1*, *DNAJB11*, *TSC1/2* bei *COL4A1* (21, 25, 56). Grupė, kuriai nenustatomi patogeniniai variantai nei *PKD1*, nei *PKD2* genuose, vadinama atipine ADPIL (57).

Jau prieš daugelį metų atliktuose tyrimuose išryškėjo skirtumai tarp *PKD1* ir *PKD2* grupių. Pacientams, kuriems nustatyti patogeniniai *PKD2* geno

variantai, kraujospūdžio padidėjimo tikimybė yra mažesnė, o inkstų funkcijos nepakankamumas išsivysto 15–20 metų vėliau, nei sergantiems 1 tipo liga dėl *PKD1* geno variantų (58). Vėliau publikuoto tyrimo duomenimis, *PKD2* pacientams, sulaukusiems 60 metų, inkstų funkcijos nepakankamumo tikimybė siekė 9,8 proc., o kraujospūdžio padidėjimo tikimybė buvo 75,2 proc. (59). Tačiau Kataoka ir kt. atliktame tyrime išaiškėjo, jog *PKD2* geno variantai ne visada susiję su palankia prognoze. Įvertinus inkstų prognozę pagal genetinių variantų tipus, ji buvo blogesnė pacientams, turintiems *PKD1* sukirpimo, arba splaisingo (*splicing*), *PKD1* skaitymo rėmelio poslinkio (*frameshift*) ir *PKD2* sukirpimo variantus (60). Atipinės ADPIL atvejais fenotipas dažnai lengvesnis, o cistos nepaveikia inkstų dydžio taip, kaip tipinės ligos atveju (57).

Autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga

Autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga (ARPIL) pasižymi fusiforminių cistų susidarymu inkstų surenkamuosiuose kanalėliuose ir fibrocistiniu kepenų pažeidimu. Ligos fenotipas sunkesnis nei ADPIL, tačiau pasireiškimas varijuoja – nuo sunkios ligos intrauteriniu laikotarpiu iki lengvesnio fenotipo, kai cistos susidaro paauglystėje (57). Tai dažniausia cistinė inkstų liga, nustatoma prenataliniu laikotarpiu (42 proc.), viena dažniausiai nustatomų vaikystėje (19 proc.) ir itin retai, esant lengvam pasireiškimui, suaugusiųjų amžiuje (0,9 proc.) (10). Pagrindinė ARPIL priežastis – patogeniniai variantai *PKHD1* gene, kuris yra vienas didžiausių su ligomis siejamų žmogaus genų. Dažniausiai (69,7 proc.) nustatomi aminorūgšties pakaitą (*missense*) ar baigmės kodono susiformavimą (*nonsense*) lemiantys variantai, o dažniausias patogeninis variantas c.107C>T (p.Thr36Met) sudaro maždaug 15–20 % mutavusių alelių (61, 62). Daugumos ARPIL sergančių pacientų genotipas yra sudėtinis heterozigotinis, o blogiausia prognozė nustatyta pacientams, turintiems bialelinius *null* (nekuriančius funkcionalaus baltymo) variantus, kai pasireiškia galutinės stadijos lėtinė inkstų liga, kepenų ir kvėpavimo liga (63).

Nedidelei grupei pacientų, kurių fenotipas panašus į ARPIL, buvo nustatyti *DZIP1L* geno variantai (64).

Nefronoftizė

Tai autosominiu recesyviu būdu paveldima tubulointerstinė nefropatija, inkstų ciliopatija, dažniausia genetinė galutinės stadijos lėtinės inkstų ligos priežastis pirmuosius tris gyvenimo dešimtmečius (65). Pagal galutinės

stadijos LIL išsivystymo laiką nefronoftizė skirstoma į kūdikių, jaunatvinę ir paauglių, iš kurių dažniausia jaunatvinė. NPHP yra kliniškai ir genetiškai heterogeniška liga, pasireiškianti arba izoliuotu inkstų pažeidimu, arba kaip sindromas, kuris pažeidžia daugiau organų sistemų. Priklausomai nuo genetinės priežasties, ekstrarenaliniai požymiai, pavyzdžiui, pigmentinis retinitas (Senioro ir Løken sindromas), smegenėlių kirmino hipoplazija (Jouberto sindromas), polidaktilija, hipogonadizmas, nutukimas (Bardet-Biedlo sindromas) ir kt., būdingi bent 15–20 proc. NPHP pacientų (65, 66). Su NPHP susijusias ciliopatijas lemia daugiau nei 100 genų, tačiau 53 proc. ligos atvejų lemia *NPHP1* geno patogeniniai variantai, o dažniausiai pasitaikantis genetinis pokytis yra visą geną apimanti homozigotinė delecija (67, 68).

Šerdinės dalies cistinė liga (autosominio dominantinio paveldėjimo tubulointerstinė inkstų liga)

Tai grupė ligų, pagal inkstų cistų fenotipą panašių į nefronoftizę, tačiau paveldimų autosominiu dominantiniu būdu ir dažniausiai nustatomų vėliau (45). Šiuo metu ši liga, anksčiau vadinta šerdinės dalies cistine liga (angl. *medullary cystic disease*), klasifikuojama kaip autosominio dominantinio paveldėjimo tubulointerstinė inkstų liga (ADTIL), siejama su patogeniniais variantais pagrindiniuose keturiuose genuose – *UMOD*, *MUC1*, *REN* ir *HNF1B* (69). Buvo identifikuoti ir kiti reti ADTIL genai, *SEC61A1* ir *DNAJB11*, iš kurių pastarasis yra susijęs su policistinės inkstų ligos fenotipu (70, 71). Pagrindinis ADTIL ekstrarenalinis požymis yra podagra, o esant su *HNF1B* susijusiai ligai, galima kasos egzokrininė, kepenų disfunkcija (69).

Paveldimo vėžio sindromai, pasireiškiantys inkstų cistomis

Kita atskira grupė, galinti pasireikšti inkstų cistomis, – paveldimo vėžio sindromai. Pagrindiniai pavyzdžiai – von Hippelio ir Lindau sindromas ir tuberozinės sklerozės kompleksas, taip pat priklausantys inkstų ciliopatijoms.

VHL geno patogeninių variantų lemiamas von Hippelio ir Lindau sindromas pasireiškia navikais ir cistiniais pažeidimais įvairiose organizmo srityse, o inkstų cistos nustatomos apie 50–70 proc. (72). Tuberozinės sklerozės kompleksą (TSK) lemia *TSC1* ar *TSC2* geno patogeniniai variantai, o inkstų cistos nustatomos maždaug 14–32 proc. atvejų, visgi TSK pasireiškimas kartu su inkstų policistine liga nėra dažnas (73). Kadangi *TSC2* genas yra šalia *PKD1* geno, maždaug 2–3 proc. pacientų nustatoma abu *TSC2/PKD1* genus apimanti delecija (74).

2.3.2. Įgimtos inkstų ir šlapimo takų anomalijos

Įgimtoms inkstų ir šlapimo takų anomalijoms (angl. *congenital anomalies of kidney and urinary tract*, CAKUT) priskiriami sutrikimai, kuriuos sukelia inkstų ir jų nutekamųjų takų vystymosi defektai (75). Pasaulyje CAKUT lemia 40–50 proc. vaikų ir 7 proc. suaugusiųjų galutinės stadijos LIL atvejų (76, 77).

Multicistinė displastinė inkstų liga (MDIL) yra dažniausia naujagimių cistinės inkstų ligos priežastis (78). Nors CAKUT priežastys dažnai neaiškios ir, tikėtina, daugiaveiksnės (79), MDIL grupėje įvairūs struktūriniai geno variantai nustatyti apie 33 proc. atvejų (80). Taip pat aprašyti atvejai, kai nustatyti patogeniniai variantai *PAX2*, *HNF1B*, *CHD1L*, *ROBO2*, *SALL1* genuose (81, 82).

Vienas monogeninės ligos pavyzdžių – su *HNF1B* genu susijusi liga (dar žinoma kaip inkstų cistų ir diabeto sindromas), kuriai būdingas variabilus fenotipas, apimantis inkstų, kasos, kepenų, lytinės sistemos simptomus (83). Nors dažniausiai nustatomas genetinis pokytis (apie 50 proc. atvejų) yra viso geno delecija dėl 17q12 chromosomos srities mikrolelecijos, kuri apima ir 14 kitų genų, aprašyta daugiau nei 230 skirtingų *HNF1B* geno variantų, įskaitant *missense*, *nonsense*, skaitymo rėmelio poslinkio ar splaisingo variantus (84, 85). Dauguma dažniausiai nustatomų variantų susitelkę pirmuose keturiuose egzonuose (86). Nors daliai pacientų cistinių pakitimų inkstuose neaptinkama, daugumai aprašomos bent kelios inkstų cistos, multicistinis displastinis inkstas ar ADPIL primenantis fenotipas (87). Tai trečia dažniausių priežasčių cistinių inkstų ligų grupėje prenataliniu laikotarpiu (16 proc.), viena dažnesnių vaikystėje (9 proc.) ir rečiau nustatoma suaugusiųjų amžiuje (1,8 proc.) (10).

Įvairios CAKUT, kaip ir multicistinis displastinis inkstas, gali būti inkstų ir kolobomos sindromo (angl. *renal coloboma syndrome* / *papillorrenal syndrome*) dalis dėl *PAX2* geno patogeninių variantų (88). Yang ir kolegų atliktas tyrimas parodė, kad inkstų ir kolobomos sindromas buvo stipriai susijęs su tikėtinais geno struktūrą trikdančiais variantais (89). Šio geno pokytis nustatytas ir pacientei, kuriai buvo ARPIL primenančių požymių, o tai rodo genetinį ir fenotipinį įvairioms grupėms priskiriamų cistinių inkstų ligų heterogeniškumą (90).

2.3.3. Kitos paveldimos inkstų ligos, kai yra inkstų cistų

Nors cistinės inkstų ligos dažniausiai siejamos su specifiniais genetiniais sutrikimais, kai kurios genetinės ne cistinės inkstų ligos taip pat gali pasireikšti inkstų cistomis. Tokiais atvejais cistų atsiradimas yra antrinis reiškinys ir ne

pagrindinis ligos požymis, tačiau kartais gali imituoti pirmines cistines inkstų ligas.

Alporto sindromu sergantiems suaugusiems pacientams, turintiems *COL4A3-5* genų patogeninių variantų, ne kartą aprašytos daugybinės abipusės inkstų cistos, kurios daliai pacientų nesuskaičiuojamos ir imituoja ADPIL (91–93). Neseniai panašūs radiniai pirmą kartą aprašyti ir Alporto sindromu sergantiems vaikams (94).

Inkstų cistų nustatoma ir Fabry liga sergantiems pacientams (apie 43,9 proc.), iš kurių daugumai cistos yra daugybinės ir išsidėsto parapelvinėje ar žievinėje dalyje (95). Literatūroje aprašytas ir sudėtingesnis atvejis, kai vienam pacientui nustatyta ir Fabry liga, ir policistinė inkstų liga (96).

Rečiau inkstų cistų nustatoma ir sergant kai kuriomis tubulopatijomis, pavyzdžiui, Bartterio sindromu. Pirmą kartą abipusės inkstų cistos aprašytos vaikui, sergančiam III tipo Bartterio sindromu, gali būti, kad dėl lėtinės hipokalemijos ir nefrokalcinozės (97). Abipusės daugybinės inkstų cistos taip pat nustatytos III tipo Bartterio sindromu sergantiems monozigotiniams dvyniams, turintiems homozigotinį patogeninį variantą *CLCNKB* gene (98).

2.4. Genetinė inkstų ligų diagnostika šiuolaikinėje medicinoje

Šiuo metu yra įvairių genetinių tyrimų metodų (pvz., tikslinės sekoskaitos nustatymas, genų rinkinių, viso genomo tyrimai ir t. t.), o tinkamiausias diagnostinis metodas pasirenkamas atsižvelgiant į įvairius ligos požymius (99). Cistinių inkstų ligų įvairovė, jų fenotipinis bei genetinis heterogeniškumas, ligas imituojantys variantai gali apsunkinti diferencinę diagnostiką ir tikslios klinikinės diagnozės nustatymą. Todėl pirmiausia genetiniai tyrimai svarbūs diagnozei patvirtinti ir personalizuotai paciento priežiūrai.

Bullich ir kt. atliktas tyrimas parodė, jog tikslinių genų naujos kartos sekoskaita gali patvirtinti jau esamą klinikinę diagnozę – cistinių inkstų ligų grupėje tai sudarė 62 proc., 14 proc. atvejų genetiniu tyrimu nustatyta nauja diagnozė, o 2 proc. pasikeitė iki tol buvusi klinikinė diagnozė. Vertinant pagal amžiaus grupes, vaikams cistinės inkstų ligos molekulinė diagnozė nustatyta 72 proc. atvejų, o dažniausios ligos buvo ARPIL, ADPIL ir su nefronoftize susijusios ciliopatijos. Suaugusiųjų grupėje molekulinė diagnozė buvo nustatyta 80 proc. atvejų, o dažniausia liga buvo ADPIL (10).

Schönauer ir kt., ištyrę 100 šeimų, kurioms kliniškai diagnozuota ADPIL, pabrėžė pastarojo meto pažangą identifikuojant genus. Tai leidžia nustatyti vis daugiau ligų, kurių klinikiniai požymiai yra panašūs į ADPIL, tačiau skiriasi jų genetinės priežastys ir mechanizmai. Šių ADPIL fenokopijų pavyzdžiai yra

su *DNAJB11* susijusi policistinė kepenų ir inkstų liga, autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga, tuberozinės sklerozės kompleksas, von Hippelio ir Lindau liga, su *LRP5* ir su *HNF1B* susijusi cistinė inkstų liga. Nustatę bialelinius *missense* variantus *PKHD1* gene, autoriai pabrėžė ARPIL svarbą suaugusiųjų policistinės inkstų ligos diferencinėje diagnostikoje, kai šeimos istorija neigiama (24).

Monogeninės lėtinės inkstų ligos priežastys vaikystėje yra gerai žinomos, o apie monogenines suaugusiųjų LIL priežastis buvo mažiau duomenų. 34 proc. suaugusiųjų, sergančių LIL, šeimos istorija yra teigiama ir tai leidžia manyti, kad priežastis yra genetinė. Mallet ir kt., atlikę su LIL siejamų genų sekoskaitą, skirtą konkrečioms diagnostinėms grupėms, genetinę priežastį nustatė iki 43 proc. pacientų (100). Lata ir kt. atliktas tyrimas parodė, kad naudojant viso egzomo sekoskaitą, monogeninę ligos priežastį galima nustatyti 24 proc. suaugusiųjų, sergančių LIL (101).

Connaughton ir kt. taip pat siekė nustatyti lėtinės inkstų ligos monogenines priežastis suaugusiems pacientams. Atlikus viso egzomo sekoskaitos tyrimą, patogeniniai variantai žinomuose genuose nustatyti 42 iš 114 (37 proc.) šeimų, o didžiausias diagnostinis efektyvumas pasiektas būtent tose šeimose, kuriose asmenys turėjo ir ekstrarenalinių požymių – molekulinė diagnozė nustatyta 11 iš 16 (69 proc.) tokių šeimų. Nustatytų genetinių diagnozių kategorijose didžiausią dalį sudarė būtent cistinės inkstų ligos (19 proc.), sindrominės įgimtos inkstų ir šlapimo takų anomalijos (19 proc.) bei izoliuotos CAKUT (16 proc.) (5). Šeimose, kuriose buvo nustatyta cistinė inkstų liga (12/114), dešimtyje iš 12 šeimų (83 proc.) nustatytas patogeninis variantas. Šešiose šeimose molekulinė genetinė diagnozė patvirtino išankstinę klinikinę diagnozę, o keturiose šeimose nustatyti patogeniniai variantai LIL genuose, kurie žinomi kaip cistinės inkstų ligos fenokopija (5).

Įvairių tyrimų duomenimis, suaugusiųjų pacientų grupėse cistinės inkstų ligos tikslinių genų sekoskaitos diagnostinis efektyvumas svyruoja nuo 24 proc. iki 88 proc., o viso egzomo sekoskaitos – nuo 23 proc. iki 80 proc., atsižvelgiant į kliniškes kohortas charakteristikas (99).

Su įgimtomis inkstų ir šlapimo takų anomalijomis bei nefronoftize susiję daug genų, todėl jų fenotipas ir genotipas yra labai heterogeniški. Be to, šiuos fenotipus dažnai lemia struktūriniai geno variantai, nustatomi chromosomų mikrogardelių metodu, kurių diagnostinis našumas didžiausias pacientams, turintiems inkstų parenchiminį formavimosi anomalijų, ir pacientams, kuriems pasireiškia ekstrarenaliniai požymiai (102–104). Likusius atvejus lemia vieno nukleotido variantai viename gene, nustatomi atliekant viso egzomo sekoskaitą arba tikslinių genų grupių tyrimą, kuris gali užtikrinti maždaug 14 proc. diagnostinę išėigą (105).

Šiuolaikinėje medicinoje genetiniai tyrimai gali būti svarbūs ne tik tikslios diagnozės nustatymui, bet ir prognozei. Tai apima ligos pasikartojimo šeimoje prognozę, galimų konkrečiai ligai specifinių papildomų požymių įvertinimą bei įspėjimą apie rizikas. Progresuojant ne tik paveldimų ligų diagnostikos, bet ir gydymo galimybėms, daugėja tyrimų, vertinančių genotipo sąsajas su gydymo efektyvumu. Sekine ir kt. nustatyti statistškai reikšmingi skirtumai vertinant gydymo tolvaptanu poveikį kasmetiniam glomerulų filtracijos greičio pokyčiui – gydymas buvo efektyvesnis pacientams, turintiems nustatytus *PKD1/PKD2* genų patogeninius variantus, negu pacientams, kuriems šiuose genuose variantai nenustatyti (9).

Be abejo, galutinis šiuolaikinės medicinos tikslas paveldimų ligų atveju – specifinio gydymo, pavyzdžiui, genų terapijos, kūrimas ir taikymas, o tai taip pat neįmanoma be tikslios molekulinės diagnozės. Genų terapija jau taikoma ne vienai ligai, o daugeliui ligų yra kuriamos potencialios terapijos galimybės. Ne išimtis ir cistinės inkstų ligos. Dong ir kt., sukūrę ADPIL modelių su pelėmis, nustatė, jog cistų formavimasis yra grįžtamas procesas pritaikius *PKD1/PKD2* reaktyvaciją. Taigi ankstyvoje policistinės inkstų ligos stadijoje gali būti įmanomas visiškas inkstų pasveikimas, o vėlyvoje stadijoje – dalinis pasveikimas (106). Huixia ir kt. ištyrė potencialią priešprasminių oligonukleotidų naudą gydant ARPIL, nulemtą *PKHD1* geno splaisingo variantų, kurie sudaro 7,7 proc. visų *PKHD1* variantų (62).

Apibendrinant literatūros duomenis, cistinės inkstų ligos išryškėja kaip itin heterogeniška sutrikimų grupė, apimanti ne tik skirtingus genetinius mechanizmus, bet ir įvairius fenotipus, nuo izoliuotų ir lengvų iki sisteminių ir progresuojančių. Inkstų cistogenezė glaudžiai susijusi su pirminių blakstienėlių funkcija, signalinių kelių reguliacija ir embrioninės raidos procesais, todėl net nedideli molekuliniai pokyčiai gali lemti ryškius klinikinius skirtumus. Pastarąjį dešimtmetį sparčiai tobulėjančios genominių tyrimų technologijos leido tiksliau apibrėžti šių ligų spektrą, atskirti fenokopijas ir identifikuoti naujas genetines priežastis, taip praplėsdamos diagnostines ir diferencinės diagnostikos galimybes. Genetinės informacijos svarba šiame kontekste yra dvejopa: ji leidžia tiksliau įvertinti ligos eigą, prognozę ir galimų ekstrarenalinių požymių riziką, o kartu sudaro pagrindą individualizuotoms gydymo strategijoms ir ateityje kuriamoms tikslinės terapijos galimybėms. Literatūros analizė aiškiai atskleidžia, kad vis didesnę reikšmę įgyja ne tik klinikinis vertinimas, bet ir integruotas genotipą ir fenotipą vertinantis požiūris, būtinas siekiant suprasti visą cistinių inkstų ligų įvairovę.

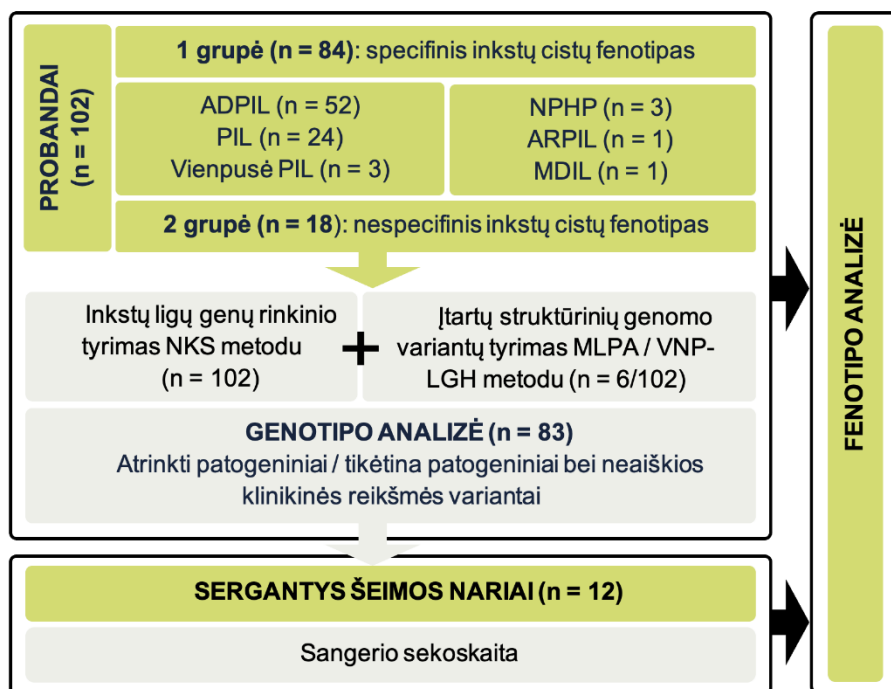
3. DARBO METODOLOGIJA

Mokslinis tyrimas atliktas Vilniaus universiteto ligoninėje Santaros klinikose. Moksliniam tyrimui atlikti gautas Vilniaus regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto leidimas Nr. 2021/6-1356-831.

3.1. Tyrimo schema

Kohortinis tyrimas

Šiame darbe genetiniai tyrimai atlikti kaip diagnostinis algoritmas, o jų rezultatai perduoti pacientams ir juos siuntusiems gydytojams. Darbo metu genetiniai tyrimai atlikti laikantis bendros metodologinės darbo eigos, paremtos genetinių duomenų generavimu, jų analize ir interpretacija. Apibendrinta tyrimo schema pateikiama 4 pav.



4 pav. Tyrimo schema.

Paaškinimai: ADPIL – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga; ARPIL – autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga; MDIL – multicistinė displastinė inkstų liga; MLPA – dauginė liguojamų zondų amplifikacija; NKS – naujos kartos sekoskaita; NPHP – nefronoftizė; PIL – policistinė inkstų liga; VNP-LGH – vieno nukleotido polimorfizmo lyginamoji genomo hibridizacija.

3.2. Tiriamieji

Tiriamųjų grupę sudaryta kviečiant VšĮ VUL Santaros klinikų Medicininės genetikos centre konsultuotus pacientus, atitinkančius tyrimo atrankos kriterijus. Nuo 2021 iki 2025 m. į tyrimą buvo įtraukti šimtas keturiolika pacientų iš 102 šeimų: 102 probandai ir, šeimose atlikus segregacijos analizės tyrimus, 12 sergančiųjų šeimų narių. Probandai atrinkti pagal kriterijus:

1. Nustatytas cistinės inkstų ligos fenotipas (pvz., policistinė inkstų liga, multicistinė displastinė inkstų liga, nefronoftizė).
2. Daugybinės inkstų cistos, kai nėra aiškaus cistinės inkstų ligos fenotipo ir nenustatyta kita įgyta inkstų liga (nespecifinis inkstų cistų fenotipas).

3.3. Genetinis ištyrimas

Genetiniai tyrimai atlikti pagal diagnostinį protokolą VšĮ VUL Santaros klinikų Medicininės genetikos centre, Molekulinės genetikos ir citogenetikos laboratorijoje (MGCL) patvirtintas tyrimų procedūras.

3.3.1. DNR išskyrimas

Genetiniai tyrimai atlikti tiriant genominę DNR, išskirtą iš periferinio kraujo leukocitų, taikant standartinį fenolio chloroformo metodą arba naudojant komercinius DNR išskyrimo rinkinius vadovaujantis procedūromis MGC P 65 „DNR išskyrimas fenolio–chloroformo–izoamilo alkoholio metodu“ ir MGC P 66 „DNR išskyrimas QIAGEN rinkiniais“. Išskirtos DNR koncentracija ir švarumas nustatyti spektrofotometru, pasirinkus, kad DNR švarumas A260/A280 bangos ilgių santykiyje turi būti tarp 1,7–1,9.

3.3.2. Naujos kartos sekoskaita

Viso egzomo sekos nuskaitymas ir gautų duomenų pirminės analizės algoritmas vykdytas viso žmogaus egzomo NKS paslaugą teikiančioje laboratorijoje pagal VšĮ VUL SK sutartį (CeGaT GmbH, Tiubingenas, Vokietija) naudojant didelio našumo naujos kartos *Illumina (Illumina, Inc., San Diego, CA, USA)* platformą. Iš NKS paslaugą teikiančios papildomų tyrimų laboratorijos gauti šio formato failai – pirminiai sekoskaitos duomenys (.fastq), prilygiuoti prie referentinio genomo duomenys (.bam), nustatytų VNV, trumpų iškritų ir (ar) intarpų, struktūrinių variantų duomenys (.vcf). Gautų sekos duomenų (FASTQ, BAM, VCF failai) analizė buvo atlikta VšĮ VUL SK Medicininės genetikos centro Molekulinės genetikos ir citogenetikos laboratorijoje laikantis patvirtintos vidinės bioinformatinės darbo eigos.

Analizuojami baltymus koduojančių genų, siejamų su paveldimomis inkstų ligomis, egzonai ir aplinkinės sekos (ne mažiau kaip 6 nt abipus egzono), vertinant nustatytų genomo variantų sąsają su paciento klinikiniais požymiais. Likusi intronų dalis, promotorius ir kitos (reguliacinės) sekos netiriamos.

3.3.3. Inkstų ligų genų rinkinio analizė

Paveldimų inkstų ligų genų rinkinio sekoskaitos duomenų anotavimas ir interpretavimas atliktas VšĮ VUL SK Medicininės genetikos centro Molekulinės genetikos ir citogenetikos laboratorijoje, vadovaujantis procedūra MGC P 51 „Kelių–keliasdešimties genų koduojančių sekų tyrimas naujos kartos sekoskaita“, naudojant *ANNOVAR 2020Jul08* (107). Anotuoti visi kokybinius rodiklius atitinkantys genomo variantai. Po anotacijos *ANNOVAR* programa failai modifikuoti, prijungti OMIM (<https://www.omim.org/>), *Orphanet* (<https://www.orpha.net/>), MGCL NKS duomenų bazės duomenys ir pakeisti į *Microsoft Excel* formato naudojant MGCL sukurtą programą „*PostAnotacinis_SNP_INDEL_procesas.sh*“. Naudojant MGCL sukurtą programą „*Genu_rinkiniu_filtras.sh*“ sukurti duomenų failai, kuriuose yra genomo variantai, esantys genuose, kurie nurodyti paveldimų inkstų ligų genų rinkinyje (žr. 1 priedą).

Rezultatų analizė ir interpretavimas atlikti pagal Amerikos medicininės genetikos ir genomikos kolegijos (angl. *American College of Medical Genetics and Genomics*, ACMG) genomo variantų patogeniškumo vertinimo kriterijus ir taisykles (žr. 3 lentelę) (108, 109). Variantai filtruoti pagal dažnį 1000 GP (angl. *1000 Genomes Project*) (110), ExAC (angl. *Exome Aggregation Consortium*), GnomAD (angl. *The Genome Aggregation Database*) (111) duomenų bazėse, pasirinkus slenkstinį retojo alelio dažnį ≤ 2 proc. Nustatytų genomo variantų *in silico* patogeniškumo prognozės įrankių įverčiai tikrinti dbNSFP (angl. *Database of human non-synonymous SNVs*) įrankių paketu (112).

Genų rinkinio tyrimo metu duomenų analizė, anotavimas ir interpretavimas atlikti naudojant GRCh38/hg38 (angl. *Genome Reference Consortium Human Build 38 / human genome 38*) referentinį genomą ir (ar) GRCh37/hg19 (113).

Remiantis CeGaT (angl. *Center for Genomics and Transcriptomics*) tyrėjų taikomu struktūrinių variantų identifikavimo algoritmu atlikus naujos kartos (viso egzomo) sekoskaitą, įtarti struktūriniai genomo variantai, apimantys su paveldimomis inkstų ligomis siejamus genus. Anototų struktūrinių variantų rezultatai, gauti *AnnotSV* programa, modifikuoti, prijungti OMIM, *Orphanet* duomenų bazių duomenys ir išsaugoti *Microsoft*

Excel formatu. Visas procesas atliktas MGCL sukurta programa „CNV_scriptas.sh“.

3 lentelė. DNR variantų klasifikavimo pagal Amerikos medicininės genetikos ir genomikos kolegijos patogeniškumo ir nepatogeniškumo kriterijus taisyklės.

Patogeninis	1 labai stiprus (PVS1) ir a) ≥ 1 stiprus (PS1–PS4) ar b) ≥ 2 vidutiniai (PM1–PM6) ar c) 1 vidutinis (PM1–PM6) ir 1 papildomas (PP1–PP5) ar d) ≥ 2 papildomi (PP1–PP5)
	≥ 2 stiprūs (PS1–PS4)
	1 stiprus (PS1–PS4) ir a) ≥ 3 vidutiniai (PM1–PM6) ar b) 2 vidutiniai (PM1–PM6) ir ≥ 2 papildomi (PP1–PP5) ar c) 1 vidutinis (PM1–PM6) ir ≥ 4 papildomi (PP1–PP5)
Tikėtina patogeninis	1 labai stiprus (PVS1) ir 1 vidutinis (PM1–PM6) ar
	1 stiprus (PS1–PS4) ir 1–2 vidutiniai (PM1–PM6) ar
	1 stiprus (PS1–PS4) ir ≥ 2 papildomi (PP1–PP5) ar
	≥ 3 vidutiniai (PM1–PM6) ar
	2 vidutiniai (PM1–PM6) ir ≥ 2 papildomi (PP1–PP5) ar
Nepatogeninis	1 vidutinis (PM1–PM6) ir ≥ 4 papildomi (PP1–PP5)
	1 vienintelis (BA1) ar ≥ 2 stiprūs (BS1–BS4)
Tikėtina nepatogeninis	1 stiprus (BS1–BS4) ir 1 papildomas (BP1–BP7) ar
	≥ 2 papildomi (BP1–BP7)
Neaiškios klinikinės reikšmės	Neatitinka pirmiau nurodytų taisyklių ar
	Prieštaraujantys patogeniškumo ir nepatogeniškumo įrodymai

3.3.4. Dauginė liguojamų zondų amplifikacija

Struktūriniais variantams, kurie buvo įtarti penkiems pacientams, patvirtinti ar paneigti atlikti tyrimai dauginės liguojamų zondų amplifikacijos (angl. *multiplex ligation-dependent probe amplification*, MLPA) metodu individualiai parinktais zondų rinkiniais, vadovaujantis procedūra MGC P 89 „Genetinių sričių kopijų skaičiaus ir (ar) metilimo tyrimas dauginės liguojamų zondų amplifikacijos ((MS-)MLPA) metodu“. Tyrimo rezultatų analizė atlikta gamintojo *MRC Holland* rekomenduojama *Coffalyser.net* programa arba *MS Office* programa *Excel*.

Vienam pacientui įtarta *PKD1* geno duplikacija, apimanti 1 egzoną. Tiriamojo *PKD1* geno egzonų delecijų ir duplikacijų tyrimas atliktas MRCHolland SALSA® MLPA® Probemix P351025R PKD1 zondų rinkiniu.

Vienai pacientei įtarta *PKD1* geno 31–34 egzonų heterozigotinė delecija. Tiriamosios *PKD1* geno egzonų delecijų ir duplikacijų tyrimas atliktas MRC-Holland SALSA® MLPA® Probemix P352-025R PKD1-PKD2 zondų rinkiniu.

Trims pacientams įtartos *NPHP1* geno delecijos. *NPHP1* geno koduojančių egzonų kopijų skaičiaus tyrimas atliktas MRC-Holland SALSA® MLPA® Probemix P387-A3 NPHP1 zondų rinkiniu.

3.3.5. VNP lyginamoji genomo hibridizacija

Vienai pacientei įtartam struktūriniam variantui patvirtinti ar paneigti atliktas vieno nukleotido polimorfizmo lyginamosios genomo hibridizacijos (VNP-LGH) tyrimas *Illumina Infinium*® LCG metodu, naudojant *Infinium Global Diversity Array with Cytogenetics-8 v1.0* lustą.

Kopijų skaičiaus pokyčių (KSP) analizė atlikta *GenomeStudio*™ *Genotyping Module* v2.0.5 ir *GenomeStudio*™ *CNVPartition* 3.2.0 programine įranga. Siekiant nustatyti KSP, *GenomeStudio*™ *Genotyping Module* v2.0.5 modulio genomo ir chromosomų naršyklėse bei duomenų bazėse (DGV (<https://dgv.tcag.ca/>), *ClinGen* (<https://clinicalgenome.org/>), DECIPHER (<https://deciphergenomics.org/>), NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), ENSEMBL (<https://www.ensembl.org/index.html>), ECARUCA ir kt.) atlikta bioinformatinė analizė. Nustatyto KSP patogeniškumas vertintas pusiau kiekybine taškų skaičiavimo sistema (114). Naudotas referentinis genomas: GRCh37/hg19 ir (ar) GRCh38/hg38 (113). Tyrimas atliktas vadovaujantis procedūra MGC P 49 „Vieno nukleotido polimorfizmo lyginamosios genomo hibridizacijos tyrimas“.

3.3.6. Sangerio sekoskaita

Sangerio sekoskaita atlikta segregacijos analizei šeimose, vadovaujantis procedūra MGC P 24 „Geno ar jo fragmento nukleotidų sekos nustatymas sekoskaitos metodu“. DNR sekos, apimančios tirtus šeiminius *PKD1*, *PKD2*, *PAX2*, *HNF1B* genų variantus, buvo pagausintos naudojant PCR *Master Mix* (2X) pagal gamintojo protokolą (*Thermo Fisher Scientific*, JAV). Konkretūs pradmenys šiems variantams sukurti naudojant *Primer3web* (115) ir gauti pagal užsakymą. Sangerio sekoskaita buvo atlikta naudojant *BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit* (*Applied Biosystems*, JAV) ir automatinį genetinį analizatorių ABI PRISM 3130xl (*Applied Biosystems*, JAV) pagal gamintojo protokolą. Gautos sekos lygintos atitinkamai su

referentine *PKD1* geno seka (NCBI: NM_001009944.3), *PKD2* geno seka (NCBI: NM_000297.4), *PAX2* geno seka (NCBI: NM_000278.5) ir *HNF1B* geno seka (NCBI: NM_000458.4).

3.3.7. Variantų atranka

Sąsajų su fenotipu analizei buvo atrinkti patogeniniai (5 klasės), tikėtina patogeniniai (4 klasės) ir neaiškos klinikinės reikšmės variantai (3 klasės). Patogeniniai ir tikėtina patogeniniai variantai laikyti diagnostiniais. Baltymą trumpinančiais variantais laikyti *nonsense*, skaitymo rėmelio poslinkį lemiantys, splaisingo variantai ir didelės delecijos. Baltymo netrumpinančiais variantais laikyti *missense* variantai bei skaitymo rėmelyje esančios nedidelės delecijos ar intarpai. Tyrimo metu variantų patogeniškumo vertinimas pakartotinai tikrintas naudojantis *VarSome* bioinformaciniu įrankiu (<https://varsome.com/>), taikant ACMG kriterijus. Variantų naujumas buvo tiriamas naudojantis viešomis variantų duomenų bazėmis – *ClinVar* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), *VarSome* ir ADPIL variantų duomenų baze (PKDB) (<http://pkdb.mayo.edu>), kurioje pateikiama informacija tik apie *PKD1* ir *PKD2* genus, bei literatūra. Naujų variantų sritis baltymo sekoje tikrinta naudojantis *UniProt* duomenų baze (<https://www.uniprot.org/>).

3.4. Klinikinių duomenų analizė

Rinkti ir analizuoti pacientų demografiniai duomenys (lytis, amžius įtraukimo į tyrimą metu), genealogija, iš medicininės dokumentacijos – klinikiniai, atliktų tyrimų duomenys: pilvo, inkstų, galvos smegenų, širdies radiologiniai (ultragarso, kompiuterinės tomografijos, magnetinio rezonanso tomografijos) tyrimai, laboratoriniai tyrimai (apskaičiuotasis glomerulų filtracijos greitis (aGFG), kreatinino, šlapalo, šlapimo rūgšties, bendras šlapimo tyrimai), nustatytos klinikinės diagnozės, duomenys apie atliktas transplantacijas. Lėtinės inkstų ligos stadijos nustatytos pagal KDIGO 2024 lėtinės inkstų ligos įvertinimo ir valdymo klinikinės gairės (116). Nustatytos kraujo rodiklių normos ribos ir lėtinės ligos inkstų stadijų įvertinimas nurodyti 4 ir 5 lentelėse. Klinikinių duomenų palyginimas grupėse atliktas tik suaugusiems tiriamiesiems.

4 lentelė. Kraujo rodiklių normos ribos.

Rodiklis	Normos ribos
Šlapalas, mmol/l	2,5–7,5 (suaugusieji); 1,7–8,3 (vaikai)
Kreatininas, $\mu\text{mol/l}$	64–104 (suaugusieji); 25–42 (vaikai)
aGFG, ml/min/1,73m ²	> 90
Šlapimo rūgštis, $\mu\text{mol/l}$	208–428 (suaugusieji); 205–420 (vaikai)

Paaiškinimas: aGFG – apskaičiuotasis glomerulų filtracijos greitis.

5 lentelė. Lėtinės inkstų ligos stadijos, vertinant pagal glomerulų filtracijos greitį.

GFG kategorijos (ml/min/1,73m ²) Apibūdinimas ir intervalas	G1	Normalus ar aukštas	≥ 90
	G2	Nedaudg sumažėjęs	60–89
	G3a	Nedaudg–vidutiniškai sumažėjęs	45–59
	G3b	Vidutiniškai–stipriai sumažėjęs	30–44
	G4	Stipriai sumažėjęs	15–29
	G5	Inkstų nepakankamumas	< 15

Paaiškinimas: GFG – glomerulų filtracijos greitis.

3.5. Statistinė analizė

Hipotezėms apie kintamojo skirstinio normalumą patikrinti buvo naudojamas *Shapiro ir Wilko testas*. Kiekybiniai kintamieji nurodyti medianomis su tarpkvartiliniais skirtumais (IQR).

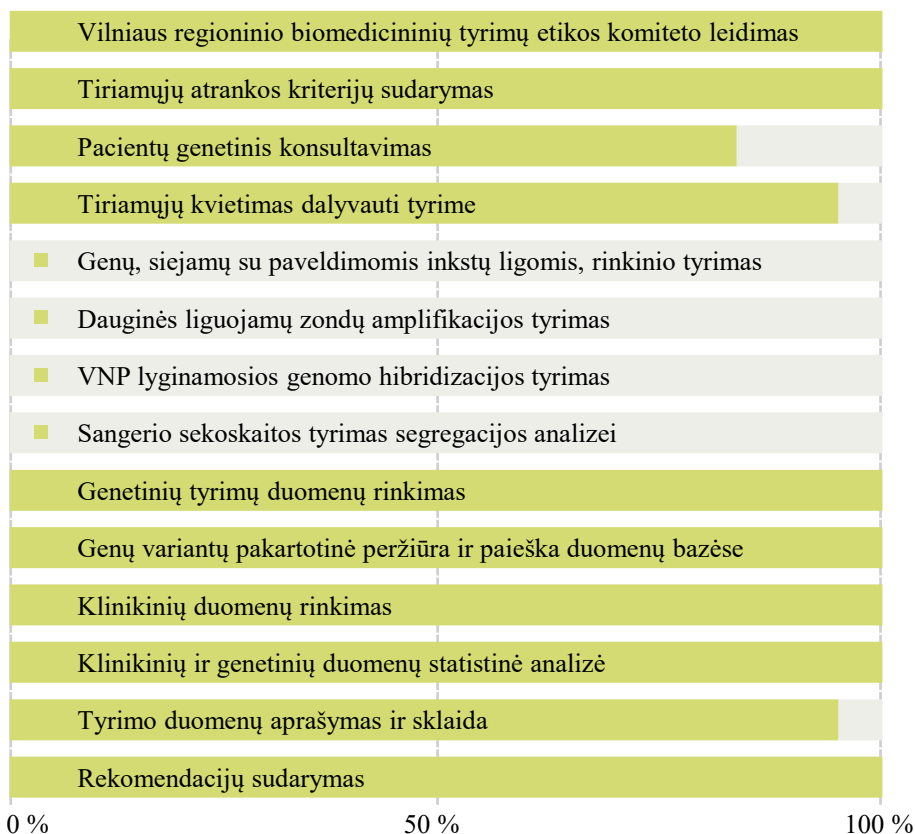
Dviejų nepriklausomų grupių palyginimui naudotas nepriklausomų imčių *t* testas normaliai pasiskirsčiusiems duomenims ir neparametrinis *Manno ir Whitney U* testas nenormaliai pasiskirsčiusiems duomenims. Kategorinių kintamųjų dažnių palyginimui buvo skaičiuojamas ir vertinamas χ^2 kriterijus. Tikslus *Fisherio* kriterijus buvo naudotas esant mažam stebėjimų skaičiui arba kai nors vienas tikėtinas stebėjimų skaičius buvo mažiau negu penki. Skirtumai laikyti statistiškai reikšmingais, kai reikšmingumo lygmuo $p < 0,05$.

Kiekybinių rodiklių tarp *PKD1* ir *PKD2* grupių palyginimui taikytas bendrasis tiesinis modelis normaliai pasiskirsčiusiems duomenims ir

neparametrinis ANCOVA testas nenormaliai pasiskirsčiusiems duomenims. Amžius buvo įtrauktas kaip kovariantė. Dichotominių kintamųjų analizėje taikyta dvejetainė logistinė regresija, koreguojant pagal amžių. Dviejų krypčių p reikšmė $< 0,05$ buvo laikoma statistiškai reikšminga.

Duomenų statistinė analizė atlikta naudojant *IBM SPSS Statistics* programą (versija 31.0.0.0 (117), licencijos nr. d4540384a80326e2ad14) bei *Microsoft Excel* programą (versija 16.101.2 (25102623), licencijos nr. EWW_e261c5fe-5a7a-40f0-b2fe-178e9b1e0267_bfc89a309604e6097f).

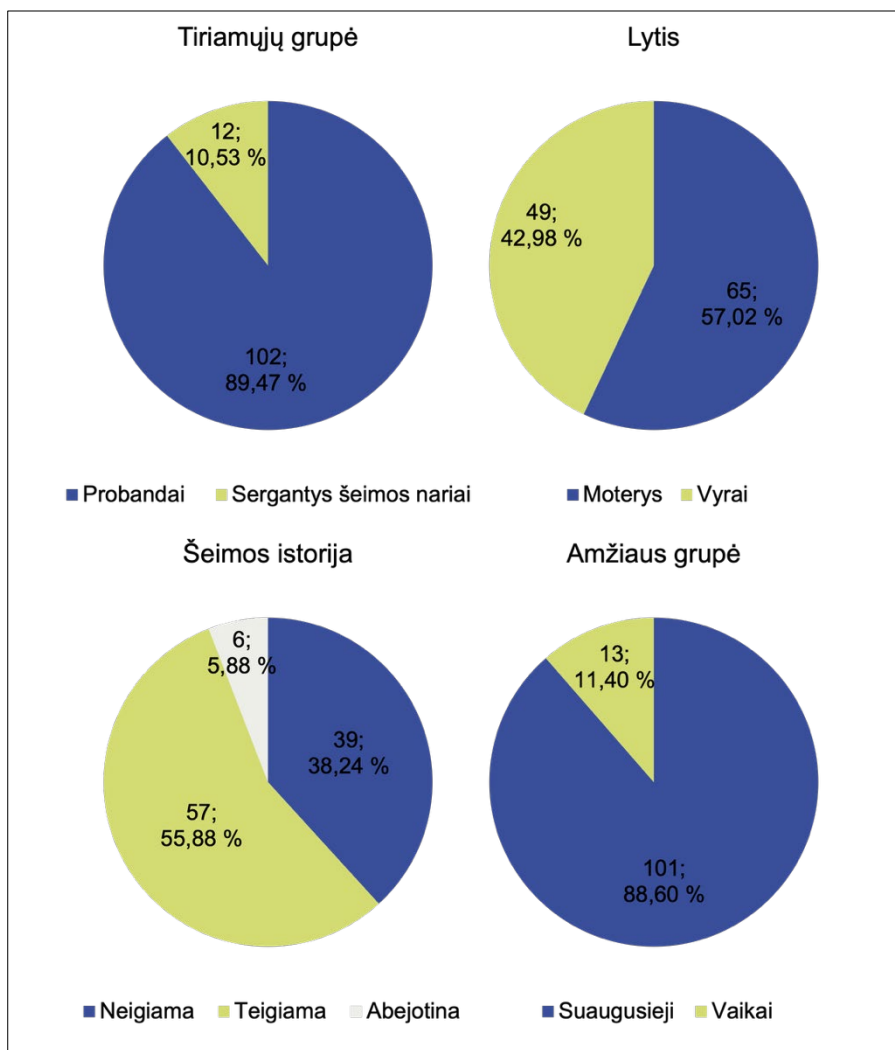
Atliktų darbų apibendrinimas ir doktorantės indėlis nurodyti 5 pav.



5 pav. Atliktų darbų schema; doktorantės indėlis pažymėtas žalia spalva.

4. REZULTATAI

Tarp visų 114 pacientų buvo 65 (57,02 proc.) moterys ir 49 (42,98 proc.) suaugusieji (suaugusieji – 18 metų ar vyresni) (žr. 6 pav.). Pacientų amžius svyravo nuo 1 mėnesio iki 78 metų. Teigiama buvo 57 (55,88 proc.) šeimų istorija, o 6 (5,88 proc.) šeimų – abejotina. Tiriamųjų demografinės ir bendrosios klinikinės charakteristikos apibendrintos 6 lentelėje.



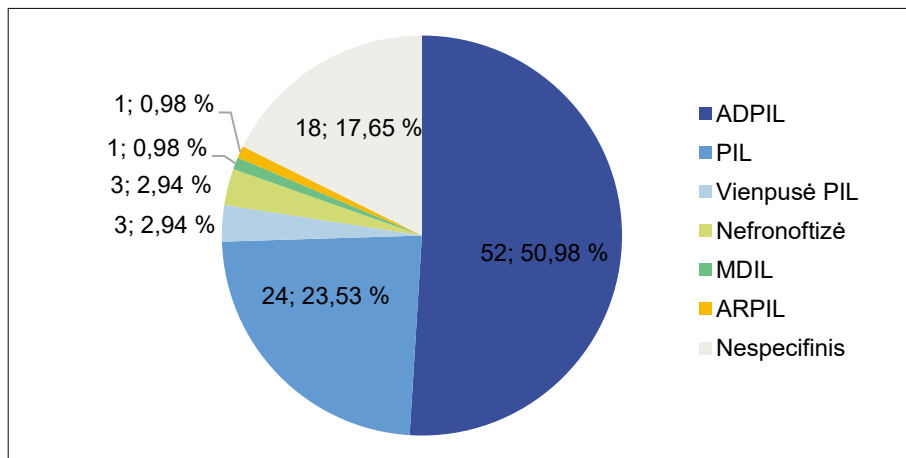
6 pav. Tiriamųjų grupės bendrosios charakteristikos.

6 lentelė. Tiriamųjų grupės demografinės ir bendrosios klinikinės charakteristikos.

	Visi tiriamieji (n = 114)	Probandai (n = 102)		Šeimos nariai (n = 12)
		Suaugę (n = 93)	Vaikai (n = 9)	
Lytis, moteris	65 (57,02 proc.)	52 (55,91 proc.)	6 (66,67 proc.)	7 (58,33 proc.)
Lytis, vyras	49 (42,98) proc.)	41 (44,09 proc.)	3 (33,33 proc.)	5 (41,67 proc.)
Amžius, m.	39 [28–51]	44 [34–54]	14 [6–16]	28,5 [13–35,5]
Šeimos istorija teigiama	69 (60,53 proc.)	53 (56,99 proc.)	4 (44,44 proc.)	12 (100 proc.)
Šeimos istorija neigiama	39 (34,21 proc.)	34 (36,56 proc.)	5 (55,56 proc.)	–
Šeimos istorija abejotina	6 (5,26 proc.)	6 (6,45 proc.)	0 (0 proc.)	–
aGFG, ml/min/1,73m ²	83,5 [46–104]	70 [43–95]	98,1 [81–105]	90 [87–108,5]
Kreatininas, µmol/l	88 [69,5–136]	94 [72–150]	60 [43–76]	78 [58,5–94]
Slėpalas, mmol/l	6,42 [4,8–10,2]	6,6 [3,2–25,7]	5,75 [3,4–12,4]	5,15 [3,5–20]
Slėpimo rūgštis, µmol/l	353 [298–438]	361 [196–840]	222 [196–498]	290,5 [203–683]
LIL, G1 stadija	38 (33,33 proc.)	27 (29,03 proc.)	5 (55,56 proc.)	6 (50,00 proc.)
LIL, G2 stadija	25 (21,93 proc.)	18 (19,35 proc.)	3 (33,33 proc.)	4 (33,33 proc.)
LIL, G3 stadija	20 (17,54 proc.)	18 (19,35 proc.)	1 (11,11 proc.)	1 (8,33 proc.)
LIL, G4 stadija	10 (8,77 proc.)	10 (10,75 proc.)	0 (0 proc.)	0 (0 proc.)
LIL, G5 stadija	12 (10,53 proc.)	11 (11,83 proc.)	0 (0 proc.)	1 (8,33 proc.)
LIL stadija nežinoma	9 (7,89 proc.)	9 (9,68 proc.)	0 (0 proc.)	0 (0 proc.)
Arterinė hipertenzija	66 (57,89 proc.)	60 (64,52 proc.)	3 (33,33 proc.)	3 (25 proc.)

Paiškinimai: aGFG – apskaičiuotasis glomerulų filtracijos greitis; LIL – lėtinė inkstų liga.

Pirminis probandų klinikinių diagnozių / inkstų cistų fenotipų, nustatytų pagal siuntimų genetinei konsultacijai duomenis, pasiskirstymas pateikiamas 7 pav. Apie tris ketvirtadalius sudarė su policistine inkstų liga susiję fenotipai, o beveik penktadaliui siųstų pacientų specifinis inkstų cistų fenotipas nebuvo nustatytas.

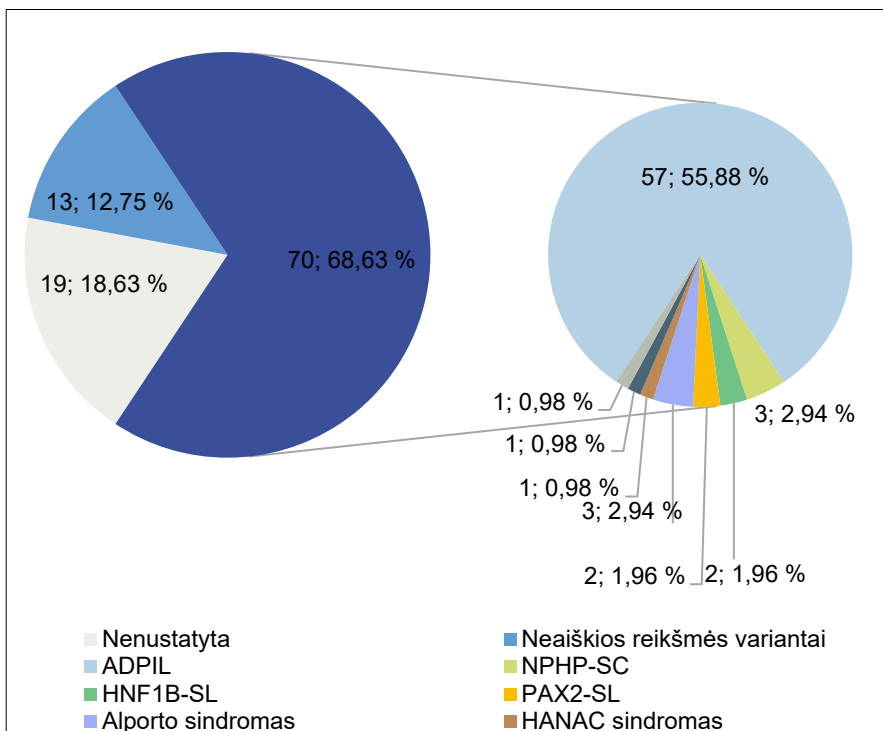


7 pav. Pirminis probandų klinikinių diagnozių / inkstų cistų fenotipų pasiskirstymas.

Paaiškinimai: ADPIL – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga; ARPIL – autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga; MDIL – multicistinė displastinė inkstų liga; PIL – policistinė inkstų liga.

4.1. Cistinių inkstų ligų genetinė struktūra tiriamoje pacientų grupėje

Atlikus molekulinį genetinį tyrimą, patogeniniai ir tikėtina patogeniniai variantai nustatyti 70 (68,63 proc.) probandų, 13 (12,75 proc.) nustatyti neaiškios klinikinės reikšmės variantai, o 19 (18,63 proc.) probandų jokių su fenotipu susijusių variantų nenustatyta. Nustatytų molekulinį diagnozių pasiskirstymas pavaizduotas 8 pav. Dažniausia diagnozė buvo ADPIL, kurią lėmė variantai *PKD1* gene (46 probandai), *PKD2* gene (10 probandų) ir *GANAB* gene (1 probandas). Su nefronoftize susijusios ciliopatijos dėl *NPHP1* geno variantų nustatytos trims probandams ir tiek pat nustatyta Alporto sindromo atvejų dėl *COL4A5* geno variantų. Dviem nustatyta su *PAX2* genu susijusi liga ir dviem su *HNF1B* genu susijusi liga (vienas atvejis dėl taškinio varianto ir vienas dėl viso geno delecijos). Likusios diagnozės nustatytos po vieną atvejį: autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga (*PKHD1* genas), HANAC (paveldima angiopatija, nefropatija, aneurizmos ir raumenų mėšlungis, angl. *hereditary angiopathy-nephropathy-aneurysms-muscle cramps*) sindromas (*COL4A1* genas) ir tuberozinės sklerozės kompleksas (*TSC2* genas).



8 pav. Molekulinų diagnozių pasiskirstymas.

Paaiškinimai: ADPIL – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga; ARPIL – autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga; HANAC – paveldima angiopatija, nefropatija, aneurizmos ir raumenų mėšlungis (angl. *hereditary angiopathy-nephropathy-aneurysms-muscle cramps*); *HNFI1B*-SL – su *HNFI1B* genu susijusi liga; NPHP-SC – su nefronoftize susijusi ciliopatija; *PAX2*-SL – su *PAX2* genu susijusi liga; TSK – tuberozinės sklerozės kompleksas.

4.1.1. Struktūriniai genomo variantai

Šiame tyrime struktūriniai genomo variantai buvo ištarti 6-iems probandams. Ištartų pokyčių patvirtinimui atlikti papildomi tyrimai.

Probandei P83, NKS duomenimis, *PKDI* gene ištarta heterozigotinė 31–34 egzono delecija (NG_008617.1:g.(?_2097147)(2097926_?)del), nustatyta pagal CeGaT tyrėjų taikomą struktūrinių variantų identifikavimo algoritmą. Papildomai atliktas tyrimas MLPA metodu ir patvirtinta ištarta delecija (žr. 9 pav.), kuri laikoma patogeniniu struktūriniu genomo variantu, lemiančiu koduojamo baltymo funkcijos praradimą.

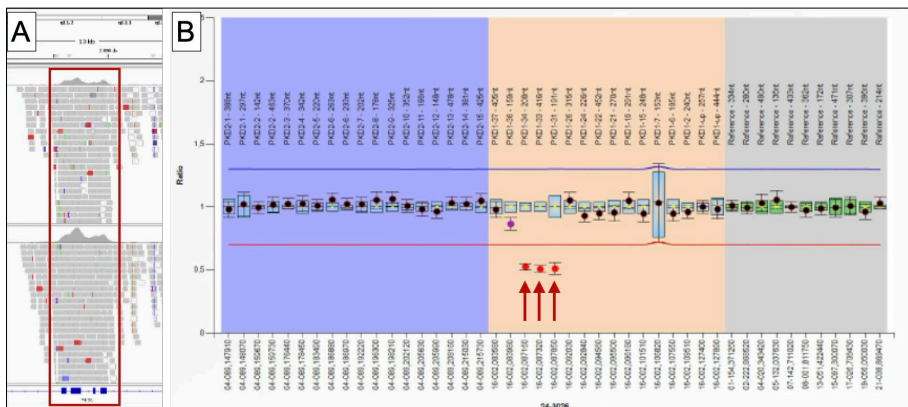
Probandui P11 *PKDI* gene ištarta neaiškos klinikinės reikšmės heterozigotinė 1 egzono duplikacija. Genotipui patikslinti atliktas MLPA tyrimas, tačiau duplikacija nebuvo patvirtinta.

Trims nustatyta *NPHPI* geno delecija – homozigotinė delecija buvo nustatyta dviem probandams, o heterozigotinė – vienam.

Probandams P79 ir P95 atlikus NKS tyrimą, gautos visiškai nepadengtos *NPHP1* geno koduojančios ir aplinkinės sekos, todėl įtarta homozigotinė *NPHP1* geno delecija. Papildomai ištyrus *NPHP1* geną MLPA metodu, gauti reakcijų produktų kokybinių ir kiekybinių rodiklių įverčiai, būdingi homozigotinei delecijai (žr. 10 pav.).

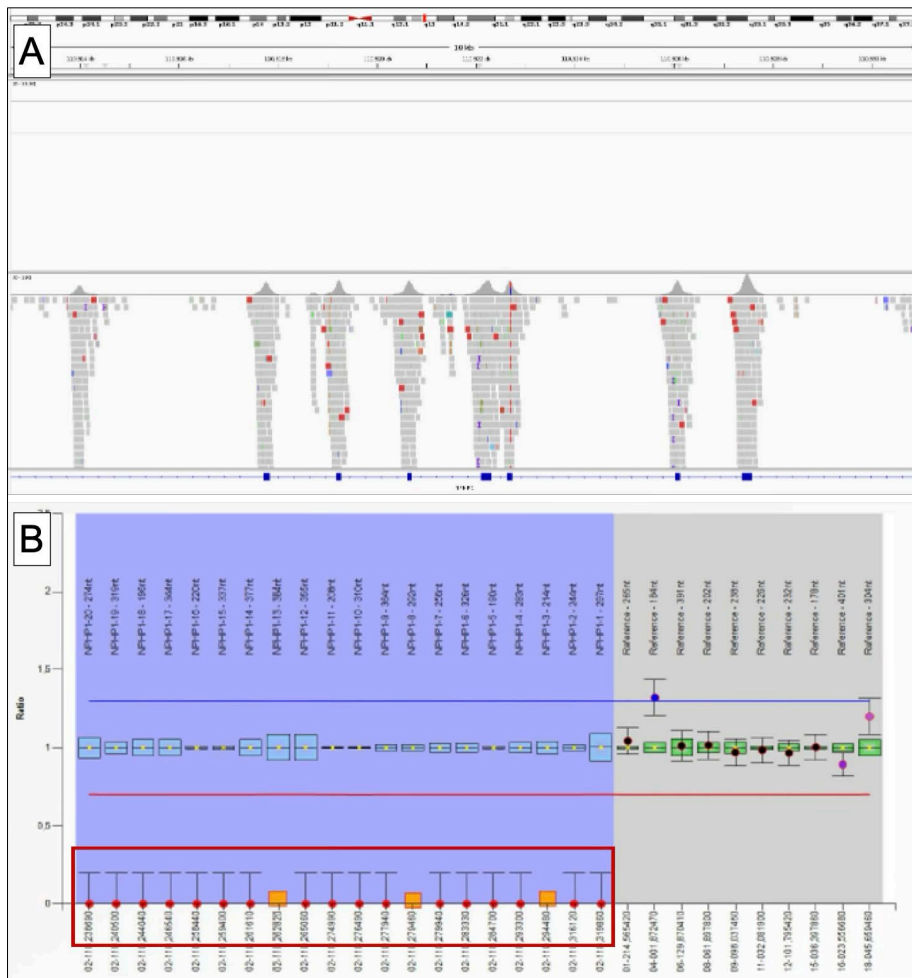
Probandui P98 įtarta heterozigotinė *NPHP1* geno delecija. Ištyrus geną MLPA metodu, gauti reakcijų produktų kokybinių ir kiekybinių rodiklių įverčiai, būdingi *NPHP1* geno heterozigotinei delecijai (žr. 11 pav.). Šiam probandui nustatytas antras *NPHP1* geno pokytis buvo taškinis variantas.

Probandei P97 įtarta viso *HNF1B* geno delecija. Papildomai atlikus VNP lyginamosios genomo hibridizacijos tyrimą, nustatyta 1,484 Mb dydžio 17-os chromosomos q12 genomo srities delecija (arr[GRCh38] 17q12(36409857_37902763)×1), apimanti visą *HNF1B* geną ir kitus su ligomis siejamus genus – *ACACA*, *PIGW*, *ZNHIT3* (žr. 12 pav.). Šis pokytis yra klasikinė 17q12 mikrodelecijos sindromo priežastis, siejama ne tik su inkstų cistomis, bet ir su cukriniu diabetu, kepenų, kasos ar gimdos struktūriniais pokyčiais. Todėl šis atvejis patvirtina struktūrinių variantų analizės svarbą dėl galimo sisteminio klinikinio poveikio.



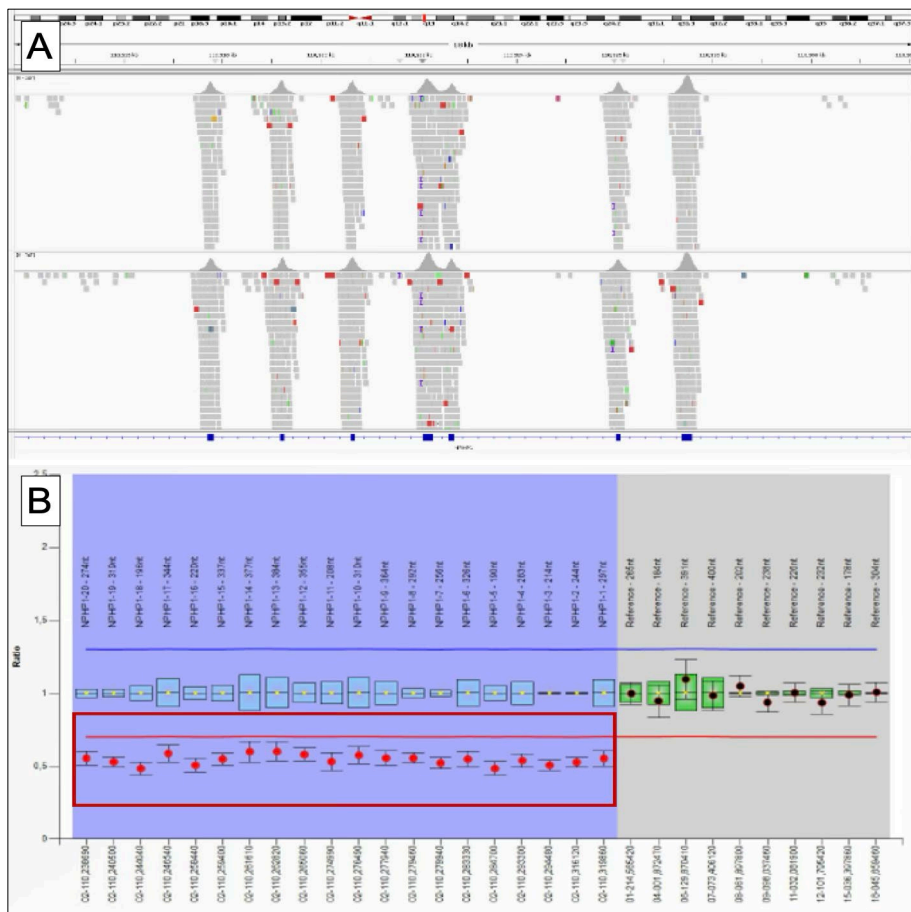
9 pav. *PKD1* geno 31–34 egzonų heterozigotinė delecija.

A – naujos kartos sekoskaitos tyrimas. Pacientės duomenis (viršuje) palyginus su kontrolinio tiriamojo (apačioje), matomas perpus mažesnis genomines srities padengimas; B – dauginės liguojamų zondų amplifikacijos tyrimo duomenys.



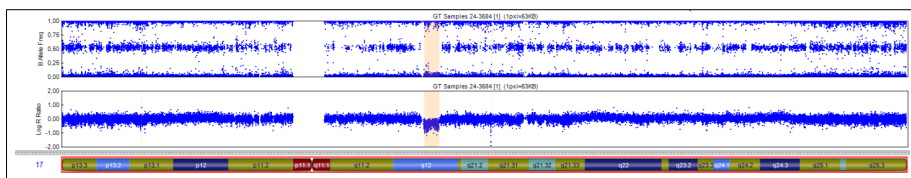
10 pav. *NPH1* geno homozigotinė delecija.

A – naujos kartos sekoskaitos tyrimas. Paciento duomenis (viršuje) palyginus su kontrolinio tiriamojo (apačioje), matyti visiškai nepadengta geno sritis; B – dauginės liguojamų zonų amplifikacijos tyrimo duomenys.



11 pav. *NPH1* geno heterozigotinė delecija.

A – naujos kartos sekoskaitos tyrimas. Paciento duomenis (viršuje) palyginus su kontrolinio tiriamojo (apačioje), matomas mažesnis geno srities padengimas; B – dauginės liguojamų zondų amplifikacijos tyrimo duomenys.



12 pav. VNP lyginamosios genomo hibridizacijos tyrimo duomenys, kuriais nustatyta 17q12 srities heterozigotinė delecija.

Delecijos sritis pažymėta rusva spalva.

4.1.2. Segregacijos analizė

Dvylikai sergančiųjų šeimos narių iš aštuonių šeimų, kurie atvyko genetinei konsultacijai, atlikta segregacijos analizė ir jie įtraukti į tyrimą. Sangerio

sekoskaita patvirtinti šeiminiai variantai *PKD1*, *PKD2*, *PAX2* ir *HNF1B* genuose. Dauguma šių variantų pagal ACMG kriterijus buvo klasifikuoti kaip patogeniniai arba tikėtinais patogeniniais. Išimtis buvo *PKD2* geno variantas c.843+3A>G, nustatytas P64 ir P84 probandų šeimose, kuris šiuo metu klasifikuojamas kaip neaiškos klinikinės reikšmės.

4.2. Specifinio ir nespecifinio inkstų cistų fenotipo grupių palyginimas

Pagal atrankos kriterijus pacientai suskirstyti į dvi grupes:

- 1) Pirmąją grupę sudarė 84 probandai, kuriems kliniškai nustatytas specifinis cistinės inkstų ligos fenotipas, ir 10 sergančių šeimos narių. Iš jų 79 šeimose pasireiškė ADPIL tipo fenotipas: 52-ose šeimose buvo nustatyta klinikinė ADPIL diagnozė, pagal inkstų vaizdinių tyrimų duomenis ir teigiamą šeimos istoriją; 24-iose šeimose kliniškai buvo įtarta policistinė inkstų liga, tačiau šeimos istorija buvo neigiama; 3-ose pasireiškė vienuose policistinė inkstų liga. 3-ose šeimose nustatytas nefronoftizės fenotipas, vienoje – įgimtų inkstų ir šlapimo takų anomalijų fenotipas (multicistinė displastinė inkstų liga), o vienoje – ARPIL fenotipas. Šios grupės tiriamųjų amžius svyravo nuo 0 iki 78 metų (12 (12,77 proc.) buvo vaikai). Penkiasdešimt septyni pacientai (60,64 proc.) buvo moterys. Arterinė hipertenzija nustatyta 54 pacientams (57,45 proc.). Galutinė lėtinės inkstų ligos stadija buvo diagnozuota 11-ai pacientų; iš jų 7-iems buvo atlikta inksto transplantacija, tuo metu pacientų amžius buvo nuo 11 iki 60 metų.
- 2) Antrąją grupę sudarė 18 probandų, kuriems buvo aptiktos nespecifinės daugybinės inkstų cistos (nespecifinis inkstų cistų fenotipas), ir 2 sergantys šeimos nariai. Šios grupės tiriamųjų amžius svyravo nuo 6 iki 76 metų (1 (5 proc.) buvo vaikas). Aštuoni pacientai (40 proc.) buvo moterys. Arterinė hipertenzija nustatyta 12 pacientų (60 proc.). Vienam pacientui, kai jis buvo 7 metų, atlikta inksto transplantacija.

Abiejų grupių bendrosios charakteristikos apžvelgiamos 7 lentelėje, jų reikšmių palyginimas pateiktas 8 lentelėje. Analizuoti tik suaugusių pacientų duomenys. Į šią ir tolesnes analizes neįtraukti pacientų, kuriems atlikta inksto transplantacija, inkstų funkcijos rodikliai, taip pat kelių pacientų tikslus aGFG nebuvo žinomas, įvardyta kaip $< 15 \text{ ml/min/1,73m}^2$ (4 atvejai pirmoje grupėje) ir $> 90 \text{ ml/min/1,73m}^2$ (2 atvejai pirmoje grupėje). Dalies pacientų tikslus inkstų dydis nebuvo apibrėžtas: pirmoje grupėje 7-iems inkstų dydis buvo nusakytas kaip padidėjęs ar neišmatuojamas, vienam – normalus; antroje grupėje 5-iems pacientams inkstų dydis apibūdintas kaip normalus.

7 lentelė. Bendrosios 1-os ir 2-os grupių suaugusių pacientų charakteristikos.

	1 grupė		2 grupė	
	Visi (n = 82)	Probandai (n = 76)	Visi (n = 19)	Probandai (n = 17)
Lytis, moteris	49 (59,76 proc.)	46 (60,53 proc.)	7 (36,84 proc.)	6 (35,29 proc.)
Lytis, vyras	33 (40,24 proc.)	30 (39,47 proc.)	12 (63,16 proc.)	11 (64,71 proc.)
Amžius	41 [31–51]	42,5 [34–52]	46 [34,5–61,5]	46 [38–62]
aGFG, ml/min/1,73m ²	80,5 [43,5–104]	72 [43–93,5]	66 [37–97]	66 [40–96]
Kreatininas, µmol/l	92 [72–147]	92,5 [72–150]	102 [72–180]	102 [73–159]
Šlapalas, mmol/l	6,52 [4,9–11,4]	6,52 [4,9–11,8]	7,45 [5,1–13]	7,45 [5,35–11,35]
Šlapimo rūgštis, µmol/l	349 [312–425,5]	351 [314–431,5]	428,5 [331–476]	428,5 [366,5–465,5]
LIL, G1 stadija	23 (28,05 proc.)	22 (28,95 proc.)	6 (31,58 proc.)	5 (29,41 proc.)
LIL, G2 stadija	19 (23,17 proc.)	15 (19,74 proc.)	3 (15,79 proc.)	3 (17,65 proc.)
LIL, G3 stadija	15 (18,29 proc.)	15 (19,74 proc.)	4 (21,05 proc.)	3 (17,65 proc.)
LIL, G4 stadija	7 (8,54 proc.)	7 (9,21 proc.)	3 (15,79 proc.)	3 (17,65 proc.)
LIL, G5 stadija	11 (13,41 proc.)	10 (13,16 proc.)	1 (5,26 proc.)	1 (5,88 proc.)
LIL, stadija nežinoma	7 (8,54 proc.)	7 (9,21 proc.)	2 (10,53 proc.)	2 (11,76 proc.)
Dešiniojo inksto ilgis, mm	147 [126–186]	147 [125,5–186]	110 [105,5–116,5]	110 [105,5–116,5]
Kairiojo inksto ilgis, mm	160 [134,5–186]	156,5 [129,5–186]	119,5 [107,5–131,5]	119,5 [107,5–131,5]
Arterinė hipertenzija	52 (63,41 proc.)	50 (65,79 proc.)	11 (57,89 proc.)	10 (58,82 proc.)
Kepenų cistos / policistozė	56 (68,29 proc.)	50 (65,79 proc.)	4 (21,05 proc.)	4 (23,53 proc.)

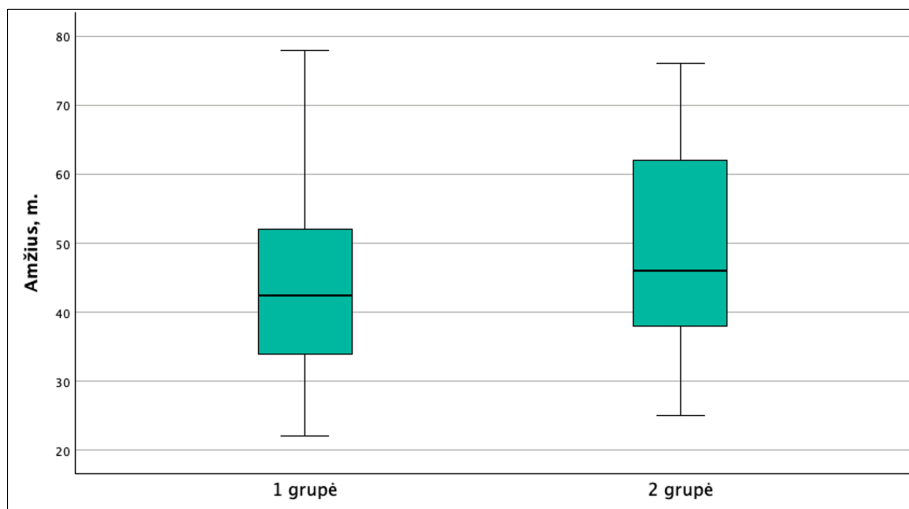
Paiškinimai: aGFG – apskaičiuotasis glomerulų filtracijos greitis; LIL – lėtinė inkstų liga.

8 lentelė. 1-os ir 2-os grupių suaugusių pacientų demografinių ir klinikinių charakteristikų palyginimas.

	1 grupė	2 grupė	<i>p</i> reikšmė
	Probandai (n = 76)	Probandai (n =17)	
Lytis, moteris	46 (60,53 proc.)	6 (35,29 proc.)	0,058
Lytis, vyras	30 (39,47 proc.)	11 (64,71 proc.)	
Amžius, m.	42,5 [34–52]	46 [38–62]	0,077
Teigiama šeimos istorija	52 (68,42 proc.)	7 (41,18 proc.)	0,035
Nustatyta molekulinė diagnozė	56 (73,68 proc.)	8 (47,06 proc.)	0,032
aGFG, ml/min/1,73m ²	72 [43–93,5]	66 [40–96]	0,624
Kreatininas, μmol/l	92,5 [72–150]	102 [73–159]	0,723
Šlapalas, mmol/l	6,52 [4,9–11,8]	7,45 [5,35–11,35]	0,443
Šlapimo rūgštis, μmol/l	351 [314–431,5]	428,5 [366,5–465,5]	0,075
Dešiniojo inksto ilgis, mm	147 [125,5–186]	110 [105,5–116,5]	< 0,001
Kairiojo inksto ilgis, mm	156,5 [129,5–186]	119,5 [107,5–131,5]	0,002
Arterinė hipertenzija	50 (65,79 proc.)	10 (58,82 proc.)	0,587
Kepenų cistos / policistozė	50 (65,79 proc.)	4 (23,53 proc.)	0,003

Paaikškinimas: aGFG – apskaičiuotasis glomerulų filtracijos greitis.

Nors moterų ir vyrų pasiskirstymas tarp grupių skyrėsi, šis skirtumas nebuvo statistiškai reikšmingas ($p = 0,058$). Vidutinis amžius tarp grupių tyrimo metu taip pat reikšmingai nesiskyrė ($p = 0,077$) (žr. 13 pav.). 1-os grupės suaugusių probandų šeimos istorija buvo teigiama statistiškai reikšmingai dažniau nei 2-os grupės (68,42 proc. ir 41,18 proc., $p = 0,035$). Atitinkamai šiose grupėse skyrėsi ir nustatytos molekulinės diagnozės dažnis, kuris buvo reikšmingai didesnis specifinio inkstų fenotipo grupėje ($p = 0,032$).

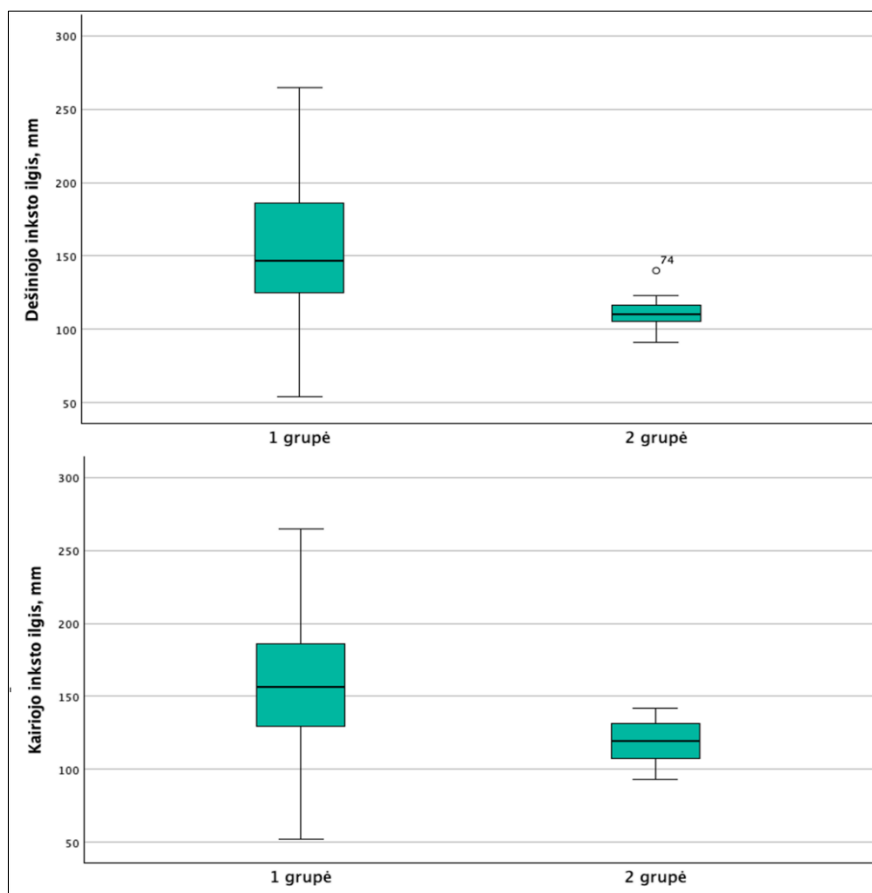


13 pav. Saugusių probandų amžiaus pasiskirstymas tyrimo metu.

Inkstų funkcijos rodikliai (aGFG, kreatininas, šlapalas) tarp grupių iš esmės nesiskyrė ir buvo panašūs. Šlapimo rūgšties koncentracija buvo didesnė 2-oje grupėje nei 1-oje grupėje, tačiau statistinis reikšmingumas nepasiektas ($p = 0,075$), nors ryškėjo tokia tendencija.

Reikšmingi skirtumai nustatyti vertinant inkstų dydį. 2-os grupės probandų tiek dešiniojo, tiek kairiojo inksto ilgis buvo statistiškai reikšmingai mažesnis nei 1-os grupės (atitinkamai $p < 0,001$ ir $p = 0,002$) (žr. 14 pav.).

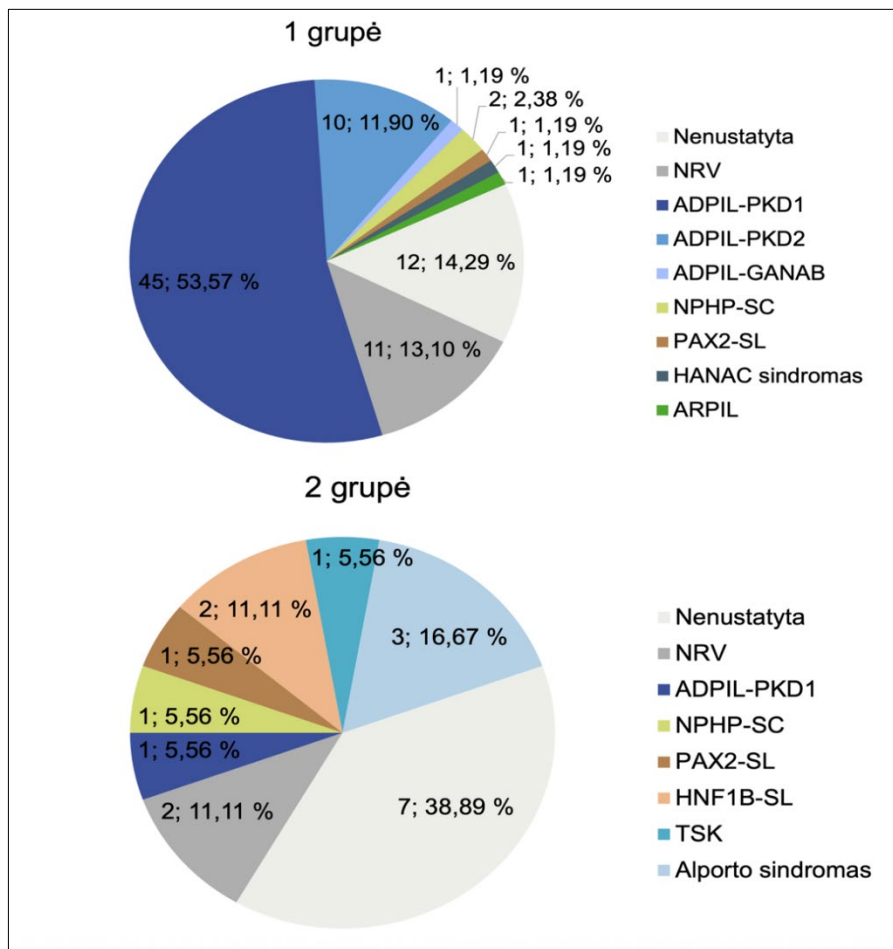
Arterinės hipertenzijos paplitimas tarp grupių reikšmingai nesiskyrė ($p = 0,587$), o kepenų cistų ar policistozės dažnis buvo reikšmingai mažesnis 2-oje grupėje nei 1-oje grupėje ($p = 0,003$).



14 pav. Saugusių probandų inkstų dydžių pasiskirstymas grupėse.

Lyginant specifinio ir nespecifinio fenotipo grupes, didesnis diagnostinis tikslumas nustatytas 1-oje grupėje (72,61 proc.), nei 2-oje grupėje (50 proc.) (žr. 15 pav.). Atitinkamai grupėse 13,10 proc. ir 38,89 proc. nenustatyta jokių su fenotipu susijusių variantų, o likusiems nustatyti neaiškos klinikinės reikšmės variantai.

Pirmoje grupėje didžiausią nustatytų diagnozių dalį sudarė ADPIL. Ši liga nustatyta 56 (66,66 proc.) šeimose: 45 (53,57 proc.) dėl *PKD1* geno, 10 (11,90 proc.) dėl *PKD2* geno ir 1 (1,19 proc.) dėl *GANAB* geno variantų. Kitos diagnozės nustatytos pavieniais atvejais: 2 (2,38 proc.) NPHP-SC, po 1 (1,19 proc.) HANAC sindromas, ARPIL ir *PAX2*-SL. Neaiškos klinikinės reikšmės variantai nustatyti *PKD1* ir *PKD2* genuose. Antroje grupėje 3 (16,67 proc.) šeimose nustatytas Alporto sindromas, 2 (11,11 proc.) *HNF1B*-SL, likę pavieniai atvejai apėmė ADPIL, *PAX2*-SL, NPHP-SC ir TSK. Neaiškos klinikinės reikšmės variantai nustatyti *PKD1* ir *UMOD* genuose.



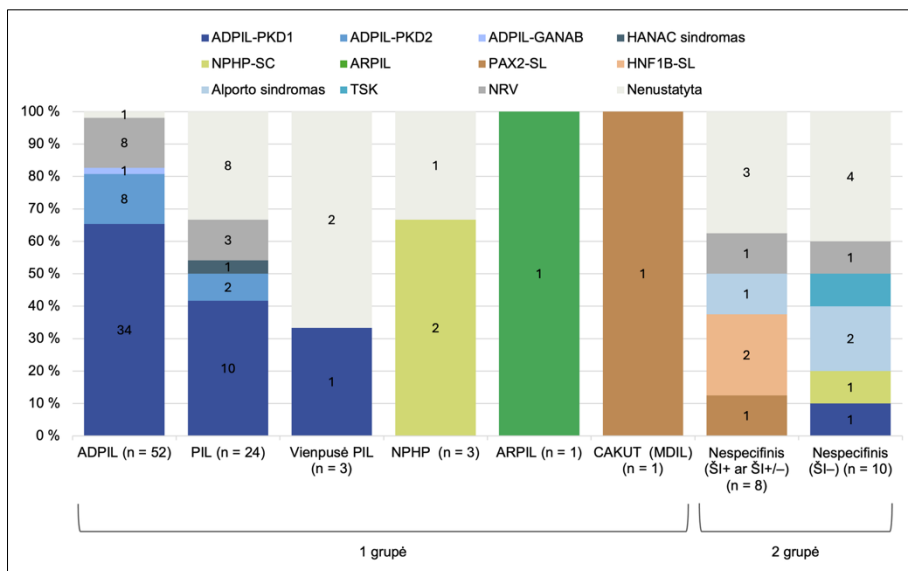
15 pav. Molekulinių diagnozių pasiskirstymas 1-oje ir 2-oje grupėje.

Paaiškinimai: ADPIL – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga; ARPIL – autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga; HANAC – paveldima angiopatija, nefropatija, aneurizmos ir raumenų mėšlungis (angl. *hereditary angiopathy-nephropathy-aneurysms-muscle cramps*); *HNF1B*-SL – su *HNF1B* genu susijusi liga; NPHP-SC – su nefronoftize susijusi ciliopatija; *PAX2*-SL – su *PAX2* genu susijusi liga; TSK – tuberozinės sklerozės kompleksas.

Toliau nustatytų diagnozių pasiskirstymas įvertintas kiekvieną grupę suskirsčius į pogrupius, atsižvelgiant į klinikinį inkstų cistų fenotipą ir šeimos istoriją.

Pusei tyrime dalyvavusių probandų ($n = 52$) pagal inkstų vaizdinius tyrimus ir teigiamą šeimos istoriją kliniškai buvo nustatyta ADPIL. Daugumai jų nustatyti 3–5 klasės variantai *PKD1*, *PKD2* ir *GANAB* genuose (žr. 16 pav.): molekulinė diagnozė nustatyta 43-ims (82,69 proc.) probandams, 8-iems (15,38 proc.) nustatyti neaiškos klinikinės reikšmės variantai, o 1-am (1,92 proc.) nebuvo nustatyta jokių genetinių variantų. Kitam pogrupiui priskirti 24 probandai, kuriems kliniškai buvo įtariama policistinė inkstų liga, tačiau jų šeimos istorija buvo neigiama; tarp jų 3–5 klasės variantai buvo nustatyti *PKD1*, *PKD2* ir *COL4A1* genuose: molekulinė diagnozė nustatyta 13-ai (54,17 proc.) probandų, 3-ims (12,50 proc.) nustatyti neaiškos klinikinės reikšmės variantai, o 8-iems (33,33 proc.) genetinių variantų nenustatyta. Iš trijų probandų, kuriems pasireiškė vienpusė policistinė inkstų liga, vienai (33,33 proc.) buvo nustatytas tikėtina patogeninis *PKD1* geno variantas. Trims probandams kliniškai nustatytas nefronoftizės fenotipas, iš jų 2-iems (66,67 proc.) nustatyti diagnostiniai *NPHP1* geno variantai. Vienai probandai kliniškai įtarta ir patvirtinta ARPIL ir vienam probandui, priskirtam įgimtų inkstų ir šlapimo takų vystymosi anomalijų pogrupiui dėl nustatytos multicistinės displastinės inkstų ligos, nustatytas patogeninis variantas *PAX2* gene.

Antrosios grupės probandai suskirstyti į du pogrupius – 8, kurių šeimos istorija teigiama ar abejotina / iš dalies teigiama, ir 10, kurių šeimos istorija neigiama. Pirmame pogrupyje molekulinė diagnozė nustatyta 4-iems (50 proc.) probandams ir apėmė variantus *PAX2*, *HNF1B* bei *COL4A5* genuose, vienam (12,50 proc.) nustatytas neaiškos klinikinės reikšmės variantas *PKD1* gene, o 3-ims (37,50 proc.) genetinių variantų nenustatyta. Antrame pogrupyje molekulinė diagnozė nustatyta 5-iems (50 proc.) probandams ir apėmė variantus *PKD1*, *NPHP1*, *COL4A3* bei *TSC2* genuose, vienam (10 proc.) nustatytas neaiškos klinikinės reikšmės variantas *UMOD* gene, o likusiems 4-iems (40 proc.) genetinių variantų nenustatyta.



16 pav. Nustatytų diagnozių pasiskirstymas pogrupiuose.

Paaiškinimai: ADPIL – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga; ARPIL – autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga; CAKUT – įgimtos inkstų ir šlapimo takų anomalijos (angl. *congenital anomalies of the kidneys and urinary tract*); HANAC – paveldima angiopatija, nefropatija, aneurizmos ir raumenų mėšlungis (angl. *hereditary angiopathy-nephropathy-aneurysms-muscle cramps*); HNF1B-SL – su HNF1B genu susijusi liga; MDIL – multicistinė displastinė inkstų liga; NPHP-SC – su nefronoftize susijusi ciliopatija; PAX2-SL – su PAX2 genu susijusi liga; ŠI – šeimos istorija; TSK – tuberozinės sklerozės kompleksas.

4.3. Sergančiųjų autosominio dominantinio paveldėjimo policistine inkstų liga grupės įvertinimas

Šiame tyrime su abipuse ADPIL susiję požymiai nustatyti 86-iems asmenims iš 76-ių šeimų. Iš jų 52-ose šeimose buvo nustatyta klinikinė ADPIL diagnozė, 24-iose šeimose nustatyta PIL, kai šeimos istorija neigiama. Šioje ADPIL grupėje 11 pacientų buvo vaikai. 9-oje lentelėje pateikti suaugusių tiriamųjų, turinčių abipusės ADPIL požymių, demografiniai ir klinikiniai duomenys, palyginant asmenis, kuriems nustatyta genetinė ADPIL diagnozė, su tais, kuriems genetinė ADPIL diagnozė nenustatyta.

9 lentelė. Pacientų, turinčių abipusės autosominio dominantinio paveldėjimo policistinės inkstų ligos požymių, bendrosios charakteristikos.

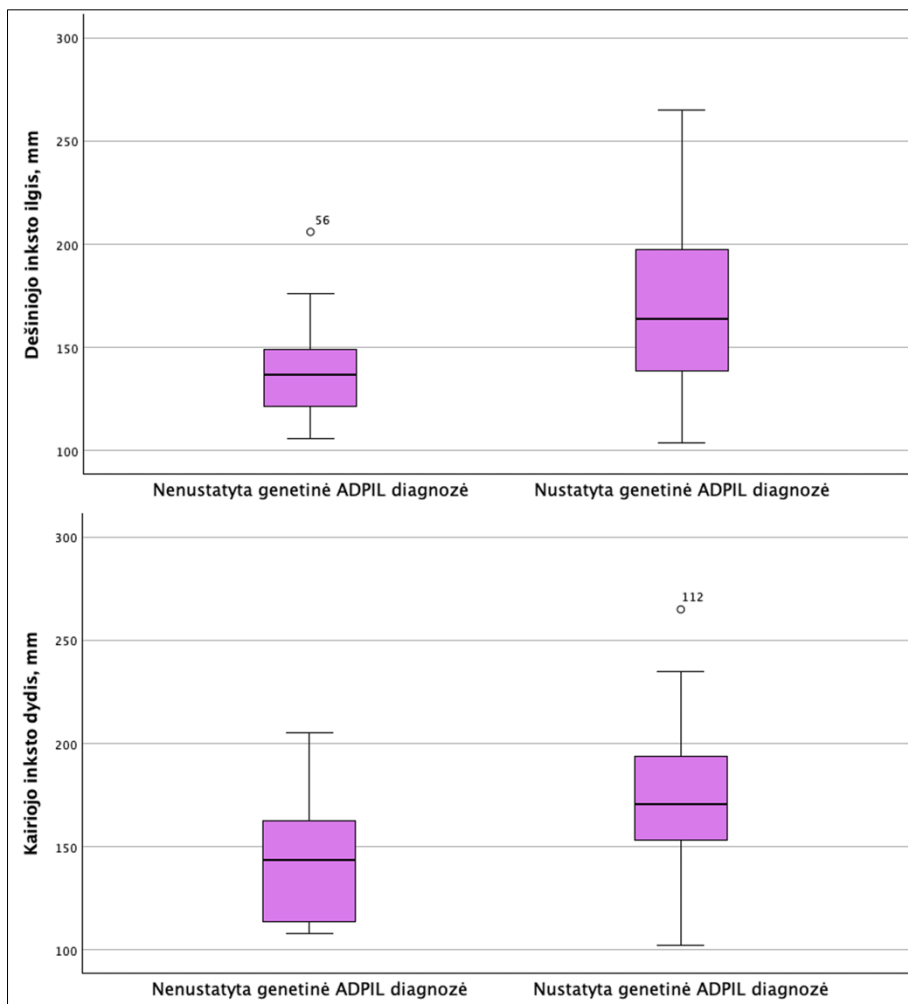
	Suaugusieji, turintys abipusės ADPIL požymių			<i>p</i> reikšmė
	Visi (n = 75)	ADPIL(+) diagnozė (n = 57)	ADPIL(–) diagnozė (n = 18)	
Lytis, moteris	48 (64 proc.)	40 (70,18 proc.)	8 (44,44 proc.)	0,047
Lytis, vyras	27 (36 proc.)	17 (29,82 proc.)	10 (55,56 proc.)	
Amžius, m.	43 [34,5–52]	40 [34–51]	49,5 [38–56]	0,101
Šeimos istorija teigiama	55 (73,33 proc.)	46 (80,70 proc.)	9 (50,00 proc.)	0,01
aGFG, ml/min/1,73m ²	82 [43–95,5]	87 [44–102]	61 [41–89]	0,219
Kreatininas, μmol/l	90,5 [72–143]	88 [71,5–140,5]	111 [73–139]	0,380
Šlapalas, mmol/l	6,6 [4,85–11,05]	6,6 [4,8–9,65]	6,45 [5,25–15,35]	0,528
Šlapimo rūgštis, μmol/l	347 [311–425]	328 [299,5–422,5]	366 [326–438]	0,237
Dešiniojo inksto ilgis, mm	150 [132–192]	164 [138,5–197,5]	137–121,5–149]	0,018
Kairiojo inksto ilgis, mm	167 [138–190]	170,5 [153–194]	143,5 [113,5–162,5]	0,002
Arterinė hipertenzija	48 (64,00 proc.)	35 (61,40 proc.)	13 (72,22 proc.)	0,641
Kepenų cistos / policistozė	55 (73,33 proc.)	46 (80,70 proc.)	9 (50,00 proc.)	0,016

Paaiškinimai: ADPIL – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga; aGFG – apskaičiuotasis glomerulų filtracijos greitis; + žymi nustatytą molekulinę diagnozę; – žymi nenustatytą molekulinę diagnozę.

Asmenų, kuriems nustatyta genetinė ADPIL diagnozė, grupėje dominavo moterys, o kuriems tokia diagnozė nenustatyta grupėje – vyrai. Šis pasiskirstymas pagal lytį tarp grupių skyrėsi statistiškai reikšmingai ($p = 0,047$). Nors vidutinis amžius buvo kiek didesnis pastarojoje grupėje, šis skirtumas nebuvo reikšmingas ($p = 0,101$).

Asmenims, kuriems patvirtinta genetinė ADPIL diagnozė, šeimos istorija statistiškai reikšmingai dažniau buvo teigiama, nei ADPIL(–) grupėje ($p = 0,01$).

Inkstų funkcijos rodikliai tarp grupių statistiškai reikšmingai nesiskyrė. O štai inkstų dydžių skirtumai buvo reikšmingi. Asmenų, kuriems nustatyta genetinė ADPIL diagnozė, inkstai buvo didesni: dešiniojo inksto ilgio mediana siekė 164 mm, o ADPIL(–) grupėje – 137 mm ($p = 0,018$); kairiojo inksto ilgio mediana buvo atitinkamai 170,5 mm ir 143,5 mm ($p = 0,002$) (žr. 17 pav.).



17 pav. Inkstų dydžių pasiskirstymas policistinės inkstų ligos grupėse.

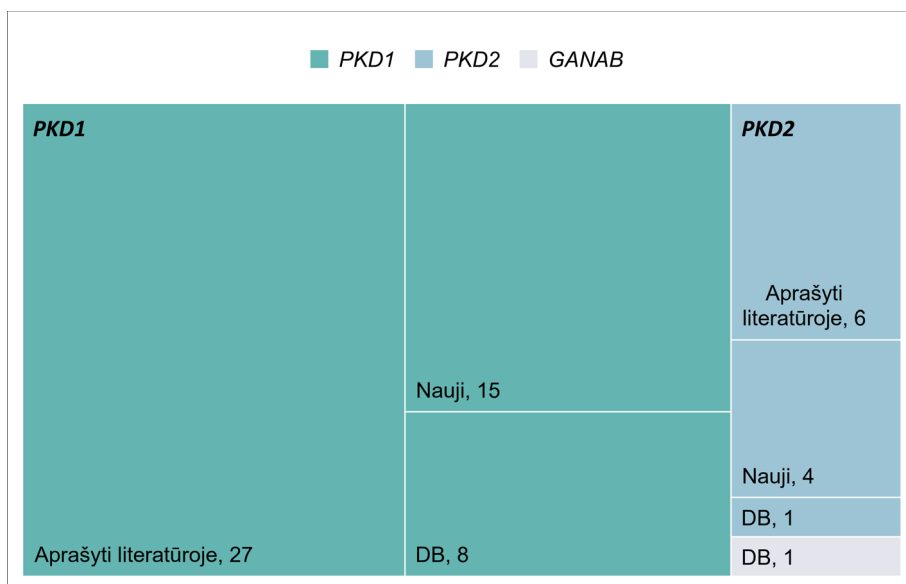
Paaiškinimas: ADPIL – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga.

Arterinės hipertenzijos dažnis tarp grupių nesiskyrė ($p = 0,641$). Tačiau kepenų cistų ar policistozės pasireiškimas buvo reikšmingai dažnesnis genetinę ADPIL diagnozę turinčių asmenų grupėje (80,7 proc.) nei ADPIL(–) grupėje (50 proc.) ($p = 0,016$).

Papildomai trims pacientams buvo nustatyta vienas pusė PIL, iš jų vienai pacientei nustatytas *PKDI* geno tikėtina patogeninis variantas c.4760G>A, p.(Arg1587His). Taip pat *PKDI* geno variantai buvo nustatyti dviem pacientams, kurių inkstų cistų fenotipas nebuvo apibrėžtas specifine klinicine diagnoze: tikėtina patogeninis variantas c.6262dup, p.(Arg2088Profs*20) ir neaiškios klinikinės reikšmės variantas c.11665G>T, p.(Ala3889Ser).

4.3.1. ADPIL grupės genotipinių ir fenotipinių variantų įvertinimas

Tyrime nustatyti variantai trijuose su ADPIL siejamuose genuose – *PKD1*, *PKD2* ir *GANAB*. Šiuose genuose 19 nustatytų variantų buvo nauji, 33 aprašyti mokslinėje literatūroje, o 10 buvo randami duomenų bazėse, tačiau literatūroje pacientų, turinčių šiuos variantus, nebuvo aprašyta (žr. 18 pav.).



18 pav. Tyrime nustatytų naujų ir žinomų variantų pasiskirstymas *PKD1*, *PKD2* ir *GANAB* genuose.

Paaiškinimas: DB – duomenų bazės (*ClinVar* ir (ar) PKDB).

Visi tyrime nustatyti variantai su ADPIL susijusiuose genuose detalizuojami 10, 11 ir 12 lentelėse. Naujai nustatytų tikėtina patogeninių variantų sritys pavaizduotos 19 pav.

10 lentelė. Tyrime nustatyti žinomi patogeniniai ir tikėtina patogeniniai variantai genuose, kurių pokyčiai siejami su autosominio dominantinio paveldėjimo policistine inkstų liga.

Šeimų skaičius	Variantas	ACMG	GnomAD: bendroji populiacija; kontrolinė grupė	<i>In silico</i> analizė: CADD, GERP, SIFT, Mutation Taster, SpliceAI	Variantų identifikacinis numeris; šaltinis
<i>PKD1</i> genas (NM_001009944.3)					
1	c.5014_5015del, p.(Arg1672Glyfs*98)	P (PVSI, PP5, PM2)	0,000006568; –	–; –; –; 0	rs1555455457; PMID: 17582161
2	c.12124C>T, p.(Gln4042*)	P (PVSI, PP5, PM2)	0,000001240; –	51; 3,5; –; 1; 0	rs199476094; PMID: 27535533
1	c.1198C>T, p.(Arg400*)	P (PVSI, PP5, PM2)	8,879e-7; –	35; 2,7; –; 1; 0,1	rs774453006; PMID: 25525159
1	c.11379dup, p.(Thr3794Serfs*22)	P (PVSI, PM2, PP5)	–; –	–; –; –; 1; 0	ClinVar
2	c.3719_3721del, p.(Asn1240del)	P (PP5, PM1, PM4, PM2)	0,000001861; –	–; 3,15; –; 0,99; –	rs1567202750; PMID: 12842373
2	c.9386del, p.(Gly3129Alafs*187)	TP (PVSI, PM2)	–; –	–; –; –; 1; 0	ClinVar
1	c.8095C>T, p.(Gln2699*)	P (PVSI, PP5, PM2)	6,248e-7; –	38; 4,4; –; 1; 0,2	rs1222094213; PMID: 25525159
1	c.1350del, p.(Ala451Profs*14)	TP (PVSI, PM2)	–; –	–; –; –; 1; 0,01	PKDB
1	c.8311G>A, p.(Glu2771Lys)	P (PP5, PM1, PM5, PS3, PM2, PP3)	0,000003106; –	24; 4,9; 0,011; 1; 0,05	rs1057518897; PMID: 17574468
1	c.2089C>T, p.(Gln697*)	P (PVSI, PM2, PP5)	–; –	36; 3,2; –; 1; 0	PMID: 22508176
1	c.6341A>G, p.(Tyr2114Cys)	TP (PM2, PP3, PP5)	–; –	23; 5,5; 0; 1; 0	rs2092427197; PMID: 23985799

10 lentelės tęsinys

Šeimų skaičius	Variantas	ACMG	GnomAD: bendroji populiacija; kontrolinė grupė	<i>In silico</i> analizė: CADD, GERP, SIFT, Mutation Taster, SpliceAI	Varianto identifikacinis numeris; šaltinis
1	c.1605A>G, p.(Gly535=)	TP (PP3, PM2, PP5)	6,558e-07; –	16; –; –; –; 0,46	PMID: 26150605
1	c.24_27dup, p.(Ala10Profs*105)	P (PVS1, PM2, PP5)	–; –	–; –; –; –; –	PMID: 38519376
1	c.11457C>A, p.(Tyr3819*)	P (PVS1, PP5, PM2)	6,209e-7; –	41; 2,5; –; 1; 0,02	rs199476098; PMID: 19165178
1	c.8162-1G>A, p.(?)	P (PVS1, PM2, PP5)	–; –	26; 4,3; –; –; 0,99	rs1555451430; PMID: 27499327
2	c.8299C>T, p.(Arg2767Cys)	P (PM1, PP5, PM5, PM2)	0,000001242; –	24; 4,9; 0,001; 0,99; 0,01	rs2092203712; PMID: 23431072
1	c.9611A>G, p.(Asp3204Gly)	TP (PM1, PM5, PM2, PP5)	–; –	25; 3,7; 0; 1; 0	rs1596513913; ClinVar
1	c.6982G>T, p.(Glu2328*)	TP (PVS1, PM2)	–; –	42; 4,5; –; 0; 0,12	ClinVar
1	c.4306C>T, p.(Arg1436*)	TP (PVS1, PM2)	–; –	35; –3,2; –; 1; 0	rs1567200516; PMID: 25525159
1	c.108del, p.(Cys37Alafs*36)	TP (PVS1, PM2)	9,313e-07; –	–; –; –; 1;	rs2092941062; ClinVar
1	c.7126C>T, p.(Gln2376*)	TP (PVS1, PM2)	6,421e-07; –	51; 4,6; –; 0; 0,1	rs1555453395; PMID: 11967008
1	c.12608_12635del, p.(Arg4203Profs*146)	TP (PVS1, PM2)	6,210e-7; –	–; –; –; 1; –	PMID: 32097206
1	31–34 egzono delecija				PMID: 36833371

10 lentelės tęsinys

Šeimų skaičius	Variantas	ACMG	GnomAD: bendroji populiacija; kontrolinė grupė	<i>In silico</i> analizė: CADD, GERP, SIFT, Mutation Taster, SpliceAI	Varianto identifikacinis numeris; šaltinis
1	c.8935_8937del, p.(Phe2979del)	TP (PM1, PM4, PM2)	6,212e-7; –	–; –; –; 0,99; 0,02	rs1358948221; PMID: 11571556
1	c.6472C>T, p.(Gln2158*)	TP (PVS1, PM2)	–; –	46; 5,5; –; 1; 0	rs2092423837; PMID: 25263802
1	c.6657_6671del, p.(Arg2220_Pro2224del)	TP (PM1, PM4, PM2)	–; –	–; –; –; –; –	PMID: 11115377
1	c.12061C>T, p.(Arg4021*)	P (PVS1, PP5, PM2)	6,201e-7; –	41; 2,3; –; 1; 0,02	rs764431330; PMID: 8911610
1	c.1660C>T, p.(Gln554*)	P (PVS1, PM2, PP5)	–; –	35; 3,3; –; 1; 0	PMID: 30816285
1	c.6367C>T, p.(Gln2123*)	P (PVS1, PP5, PM2)	–; –	36; –2,6; –; 1; 0	rs762911981; PMID: 33454723
1	c.9592C>T, p.(Gln3198*)	P (PVS1, PM2, PP5)	–; –	40; 4,8; –; 1; 0,01	rs1474701377; ClinVar/PKDB
1	c.11712+1G>A, p.(?)	P (PVS1, PP5, PM2)	–; –	27; 4,0; –; 1; 0,99	PMID: 35368817
<i>PKD2</i> genas (NM_000297.4)					
2	c.916C>T, p.(Arg306*)	P (PVS1, PP5)	0,000003718; –	38; 5,3; –; 1; 0	rs200001068; PMID: 9326320
2	c.2224C>T, p.(Arg742*)	P (PVS1, PP5)	0,000004958; –	45; 5,0; –; 1; 0,27	PMID: 8650545
1	c.1998_2001del, p.(Phe666Leufs*7)	TP (PVS1, PM2)	–; –	–; –; –; –; 0	PMID: 12707387
1	c.637C>T, p.(Arg213*)	P (PVS1, PP5, PM2)	0,000001867; –	47; 5,9; –; 1; 0,12	rs1302726543; PMID: 17582161

10 lentelės tęsinys

Šeimų skaičius	Variantas	ACMG	GnomAD: bendroji populiacija; kontrolinė grupė	<i>In silico</i> analizė: CADD, GERP, SIFT, Mutation Taster, SpliceAI	Varianto identifikacinis numeris; šaltinis
1	c.1774C>T, p.(Arg592*)	P (PVS1, PM2, PP5)	0,00000124; –	37; 4,5; –; 1; 0,01	rs1553926905; PMID: 32970388
1	c.253C>T, p.(Gln85*)	P (PVS1, PM2, PP5)	–; –	42; 2,8; –; 0; 0,37	PMID: 17582161

GANAB genas (NM_198334.3)

1	c.1786C>T, p.(Arg596Cys)	TP (PM2, PP3, PP5)	–; –	33; 5,3; 0; 1; 0	rs1565093675; ClinVar
---	--------------------------	--------------------	------	------------------	-----------------------

Paiškinimai: ACMG – geno variantų patogeniškumo vertinimo kriterijai (angl. *American College of Medical Genetics and Genomics*); P – patogeninis; TP – tikėtina patogeninis. *GnomAD* – didelės apimties tarptautinė geno ir egzomo sekoskaitos duomenų bazė (angl. *Genome Aggregation Database*).

In silico analizė: CADD (<http://cadd.gs.washington.edu/>), GERP (genominės evoliucijos greičio profiliavimo rezultatas, kuo didesnis įvertis, tuo konservatyvesnė sritis), SIFT (<http://sift.jcvi.org>), *Mutation Taster* (<https://www.mutationtaster.org/>) ir *SpliceAI* (<https://spliceailookup.broadinstitute.org/>) programos.

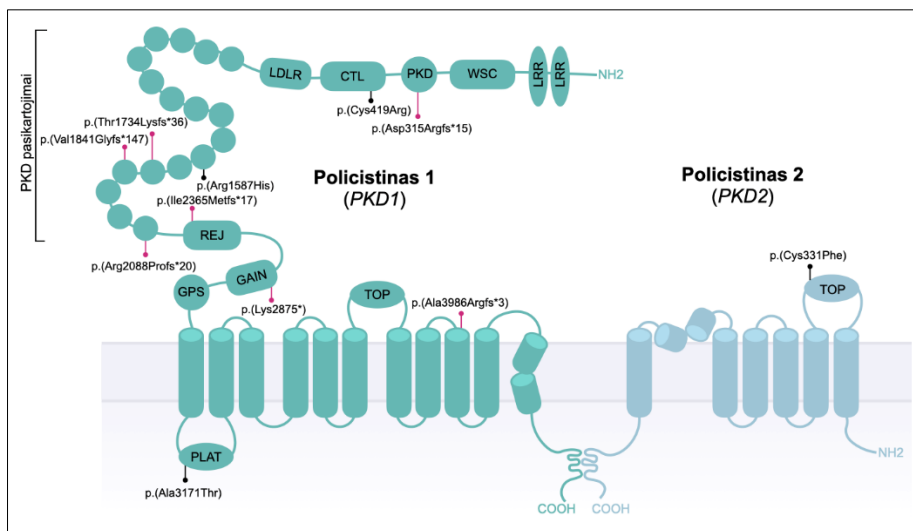
Šaltinis: PMID – straipsnio identifikacinis numeris *PubMed* duomenų bazėje (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>); *ClinVar* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>); PKDB – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinės inkstų ligos *PKD1* ir *PKD2* genų variantų duomenų bazė (<http://pkdb.mayo.edu>).

11 lentelė. Šiame tyrime nustatyti nauji tikėtina patogeniniai variantai genuose, kurių pokyčiai siejami su autosominio dominantinio paveldėjimo policistine inkstų liga.

Šeimų skaičius	Variantas	ACMG	GnomAD: bendroji populiacija; kontrolinė grupė	<i>In silico</i> analizė: CADD, GERP, SIFT, Mutation Taster, SpliceAI
<i>PKD1</i> genas (NM_001009944.3)				
1	c.8623A>T, p.(Lys2875*)	PVS1, PM2	–; –	48; 4,9; –; –; 0,11
1	c.11954_11955insGCGCAGCTGAGCT, p.(Ala3986Argfs*3)	PVS1, PM2	–; –	–; –; –; 0,99; –

11 lentelės tęsinys

Šeimų skaičius	Variantas	ACMG	GnomAD: bendroji populiacija; kontrolinė grupė	<i>In silico</i> analizė: CADD, GERP, SIFT, Mutation Taster, SpliceAI
1	c.5522_5526del, p.(Val1841Glyfs*147)	PVS1, PM2	6,257e-07; –	–; –; –; –; –
1	c.1255T>C, p.(Cys419Arg)	PM1, PM2, PP3	–; –	29; 5,0; 0; 1; 0
1	c.943_955del, p.(Asp315Argfs*15)	PVS1, PM2	–; –	–; –; –; 1; –
1	c.5201_5202del, p.(Thr1734Lysfs*36)	PVS1, PM2	–; –	–; –; –; 1; 0
1	c.8017-2del, p.(?)	PVS1, PM2	–; –	–; –; –; 1; 0,96
1	c.9511G>A, p.(Ala3171Thr)	PM1, PM2, PM5, PP3	6,207e-7; –	28; 4,7; 0,019; 0,99; 0
1	c.7095del, p.(Ile2365Metfs*17)	PVS1, PM2	–; –	–; –; –; –; 0,01
1	c.6262dup, p.(Arg2088Profs*20)	PVS1, PM2	–; –	–; –; –; 1; 0
1	c.4760G>A; p.(Arg1587His)	PM1, PM5, PM2	0,000006202; –	27; 5,1; 0,27; 0,991; 0
<i>PKD2</i> genas (NM_000297.4)				
1	c.992G>T, p.(Cys331Phe)	PM1, PM2, PM5, PP3	–; –	28; 5,6; 0; 1; 0,01
1	c.2523-5_2525del, p.(?)	PVS1, PP5	–; –	–; –; –; –; 0,01
Paaškinimai: ACMG – geno variantų patogeniškumo vertinimo kriterijai (angl. <i>American College of Medical Genetics and Genomics</i>); GnomAD – didelės apimties tarptautinė geno ir egzomo sekoskaitos duomenų bazė (angl. <i>Genome Aggregation Database</i>). <i>In silico</i> analizė: CADD (http://cadd.gs.washington.edu/), GERP (genominės evoliucijos greičio profiliavimo rezultatas, kuo didesnis įvertis, tuo konservatyvesnė sritis), SIFT (http://sift.jevl.org), <i>Mutation Taster</i> (https://www.mutationtaster.org/) ir <i>SpliceAI</i> (https://spliceailookup.broadinstitute.org/) programos.				



19 pav. Policistino 1 ir policistino 2 dvimatė struktūra.

Pažymėti tyrime nustatyti nauji tikėtina patogeniniai variantai. Raudonos linijos nurodo baltymų trumpinančius *nonsense* ir skaitymo rėmelio poslinkį lemiančius variantus, juodos linijos nurodo aminorūgščių pakaitos *missense* variantus. Adaptuota pagal: Schönauer et al., 2020 (117).

4.3.2. Pacientams nustatytų naujų tikėtina patogeninių variantų ir jų fenotipų charakterizavimas

22 metų pacientė dėl inkstų cistų stebima nuo maždaug 7–8 metų. Atlikus vaizdinius tyrimus, matomi policistiniai inkstai: kairysis inkstas 133 x 50,5 mm, dešinysis 124 x 61 mm dydžio; abipus susidariusios kolektorinės ir parenchiminės cistos, kalcinatai ir 4 mm skersmens akmuo dešinėje. Nustatytos pavienės smulkios kepenų cistos, galvos smegenyse aneurizmų nenustatyta. Pacientės inkstų funkcija nesutrikusi (aGFG 137 ml/min/1,73m², kreatininas 45 μmol/l, šlapalas 5,0 mmol/l). Šeimoje policistine inkstų liga serga tėvas. Naudojantis NKS duomenimis nustatytas tikėtina patogeninio *PKD1* geno varianto c.8623A>T, p.(Lys2875*) heterozigotinis genotipas. Šis 23-iame egzone esantis *nonsense* variantas, susidaręs dėl adenino pakaitos timinu baltymo 8623-oje pozicijoje, lemia priešlaikinio baigmės kodono susidarymą ir koduojamo baltymo sutrumpėjimą, paveikdamas funkcinį GAIN domeną. *GnomAD* projekte šis variantas nebuvo nustatytas. *In silico* patogeniškumo prognozės įrankių įverčiai numato patogeninį šio varianto poveikį. Šis *PKD1* geno variantas nustatytas ir policistine inkstų liga sergančiam pacientės tėvui.

54 metų pacientas skundėsi kairiojo šono skausmais, dažnomis šlapimo takų infekcijomis. Inkstų liga jam buvo nustatyta, kai jis buvo maždaug 20

metų. Atlikus vaizdinius tyrimus, nustatyta inkstų ir kepenų policistozė: kairysis inkstas 193 mm, dešinysis inkstas 187,5 mm ilgio; abiejuose inkstuose daugybinės cistos, dalis deformuoja inkstų kontūrą, kai kurios apkalkėjusios, dalis su nuosėdomis, hemoraginiu turiniu, susidarę keletas pavienių kalcinatų iki 5 mm dydžio. Kepenyse daugybinės cistos iki 25 mm dydžio. Pacientui padidėjęs arterinis kraujospūdis, nustatyta lėtinės inkstų ligos G2 stadija, podagra (aGFG 88 ml/min/1,73m², kreatininas 86 μmol/l, šlapalas 8,3 mmol/l, šlapimo rūgštis 513 μmol/l). Šeimoje inkstų cistų turi duktė, jai atlikta vienas nefrektomija. Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *PKDI* geno tikėtina patogeninio varianto c.11954_11955insGCGCAGCTGAGCT, p.(Ala3986Argfs*3) heterozigotinis genotipas. Šis 43-ame egzome esantis variantas, įvykęs dėl trylikos nukleotidų įsiterpimo, lemia skaitymo rėmelio poslinkį ir koduojamo baltymo sutrumpėjimą bei funkcijos praradimą, kuris yra žinomas ligos mechanizmas. Variantas nebuvo nustatytas *GnomAD* projekto kontrolinėje grupėje, *in silico* patogeniškumo prognozavimo įrankis *Mutation Taster* numato patogeninį šio varianto poveikį.

56 metų pacientui inkstų cistos nustatytos, kai jis buvo maždaug 40 metų, nuo 45 metų serga arterine hipertenzija. Atlikus vaizdinius tyrimus, matoma inkstų ir kepenų policistozė: kairysis inkstas 235 x 125 mm, dešinysis inkstas 212 x 122 mm dydžio, abu inkstai nelygiais kontūrais, įprastinė struktūra pakeista daugybinėmis cistomis iki 60 mm, jų turinys įvairaus tankio. Kepenys nepadidėjusios, nehomogeniškos struktūros, audinio echogeniškumas netolygus, kontūrai nelygūs, parenchimoje daugybinės cistos. Galvos smegenyse aneurizmų nenustatyta. Serga lėtine inkstų liga, G3b stadija, podagra (aGFG 44 ml/min/1,73m², kreatininas 151 μmol/l, šlapalas 11,8 mmol/l, šlapimo rūgštis 511 μmol/l). Šeimoje policistine inkstų liga sirgo tėvas (mirė 66 metų), inkstų cistų turi sesuo. Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *PKDI* geno varianto c.5522_5526del, p.(Val1841Glyfs*147) heterozigotinis genotipas. Šis 15-ame egzome esantis variantas, įvykęs dėl penkių nukleotidų iškritos, lemia skaitymo rėmelio poslinkį ir koduojamo baltymo funkcijos praradimą; paveikia funkcinį domeną PKD 14. Variantas nebuvo nustatytas *GnomAD* projekto kontrolinėje grupėje, o bendrojoje populiacijoje buvo labai retas.

17 metų pacientei inkstų cistos buvo nustatytos, kai jai buvo beveik 14 metų. Ultragarsiniu tyrimu nustatyti policistiniai inkstai: abiejuose inkstuose matomos daugybinės cistos, kairysis inkstas 112 mm, dešinysis 108 mm dydžio. Inkstų funkcija nesutrikusi (aGFG 98 ml/min/1,73m², kreatininas 59 μmol/l, šlapalas 3,38 mmol/l, šlapimo rūgštis 196 μmol/l). Šeimoje policistine inkstų liga serga

tėvas, kuriam nuo 53 metų atliekamos dializės, šia liga taip pat sirgo senelė. Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *PKD1* geno tikėtina patogeninio varianto c.1255T>C, p.(Cys419Arg) heterozigotinis genotipas. Šis 6-ame egzone esantis *missense* variantas lemia aminorūgšties cisteino pakaitą argininu baltymo 419-oje pozicijoje C tipo lektino (angl. *C-type lectin*) domene. Variantas nebuvo nustatytas *GnomAD* projekto kontrolinėje grupėje. *In silico* patogeniškumo prognozavimo įrankių įvertimai numato patogeninį varianto poveikį.

26 metų pacientei pirmą kartą inkstuose po kelias parenchiminės cistas aptikta sulaukusiai 5 metų, kai susirgo inkstų geldelių uždegimu. Trylikametei jai, pakartotinai atlikus pilvo ultragarsinį tyrimą, aptiktos daugybinės inkstų cistos, dėl cistinės inkstų ligos ji buvo konsultuota gydytojo genetiko, tačiau tuo metu nebuvo galimybių atlikti genetinius tyrimus ligos priežastčiai patikslinti. Nuo 17 metų jai nustatyta arterinė hipertenzija, inkstų funkcija nesutrikusi (aGFG 107 ml/min/1,73m², kreatininas 68 μmol/l, šlapalas 3,6 mmol/l, šlapimo rūgštis 330 μmol/l). Šeimoje motinai nustatyta inkstų ir kepenų policistinė liga, senelei buvo inkstų policistinė liga. Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *PKD1* geno tikėtina patogeninio varianto c.943_955del, p.(Asp315Argfs*15) heterozigotinis genotipas. Šis 5-ame egzone esantis variantas dėl trylikos nukleotidų iškritos lemia skaitymo rėmelio poslinkį ir paveikia funkcinį domeną PKD 1. Variantas nebuvo nustatytas *GnomAD* projekto grupėse, *in silico* patogeniškumo prognozavimo įrankis *Mutation Taster* numato patogeninį šio varianto poveikį.

30 metų pacientui, darant pilvo magnetinio rezonanso tomografijos tyrimą, buvo matomas policistinei inkstų ligai būdingas vaizdas: inkstai padidėję, abipus daugybinės cistos, taip pat cistos kepenyse. Inkstų funkcija šiek tiek sumažėjusi (aGFG 85 ml/min/1,73m², kreatininas 101 μmol/l, šlapalas 6,8 mmol/l). Papildomais vaizdiniais tyrimais nustatyti pavieniai divertikulai riestinėje žarnoje. Galvos smegenyse aneurizmų nenustatyta. Šeimoje inkstų ir kepenų policistinė liga nustatyta motinai ir broliui. Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *PKD1* geno tikėtina patogeninio varianto c.5201_5202del, p.(Thr1734Lysfs*36) heterozigotinis genotipas. Šis 15-ame egzone esantis variantas dėl dviejų nukleotidų iškritos lemia skaitymo rėmelio poslinkį ir paveikia funkcinį domeną PKD 13. Variantas nebuvo nustatytas *GnomAD* projekto grupėse, *in silico* patogeniškumo prognozavimo įrankis *Mutation Taster* numato patogeninį šio varianto poveikį.

Segregacijos analizei atvyko paciento 36 metų brolis, kuris apie savo inkstų cistas žino maždaug 10 metų. Vaizdiniais tyrimais nustatytos daugybinės cistos abiejuose inkstuose, daugybiniai cistiniai kepenų židiniai, inkstų funkcija šiek tiek sumažėjusi (aGFG 87 ml/min/1,73m², kreatininas 96

μmol/l, šlapalas 7,9 mmol/l). Sangerio sekoskaitos tyrimu nustatytas šeiminis *PKD1* geno variantas c.5201_5202del, p.(Thr1734Lysfs*36).

46 metų pacientei policistinė inkstų liga buvo nustatyta, kai tyrėsi dėl paūmėjusių dešinio šono skausmų. Vaizdiniais tyrimais matytas policistinės inkstų ligos vaizdas – kairysis inkstas 170 x 10 mm, dešinysis 145 x 80 mm dydžio, abipus inkstuose daugybinės įvairaus dydžio cistos, dalis su pavienėmis plonomis pertvarėlėmis, pavieniais smulkiais kalcinatais. Kepenys nepadidėjusios, lygiais kontūrais, parenchimoje daugybinės cistos iki 25 mm. Aneurizmų galvos smegenyse nenustatyta. Serga lėtine inkstų liga, G3b stadija (aGFG 38 ml/min/1,73m², kreatininas 147 μmol/l), arterine hipertenzija. Šeimoje policistinė inkstų liga diagnozuota motinai ir dukteriai. Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *PKD1* geno tikėtina patogeninio varianto c.8017-2del, p.(?) heterozigotinis genotipas. Šis 22-ame introne esantis variantas sukelia jungimosi akceptoriaus (angl. *splice acceptor*) pakitimą. Šis variantas nebuvo nustatytas *GnomAD* projekto grupėse. *In silico* splaisingą prognozuojantys įrankiai numato šio varianto poveikį alternatyviam sukirpimui. Literatūroje aprašytas alternatyvus šios srities pokytis c.8017-2A>G (rs1567180640, PMID: 17582161), kuris klasifikuojamas kaip patogeninis.

49 metų pacientei prieš metus nustatyta policistinė inkstų liga, akmenligė. Vaizdiniuose tyrimuose kairysis inkstas 167 mm, dešinysis 164 mm ilgio, abipus daugybinės cistos, taureliniai akmenys. Kepenys nepadidėjusios, jose daugybinės cistos. Galvos smegenyse aneurizmų nenustatyta. Inkstų funkcija nedaug sumažėjusi (aGFG 66 ml/min/1,73m², kreatininas 88 μmol/l, šlapalas 7,5 mmol/l). Šeimos istorija neigiama. Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *PKD1* geno tikėtina patogeninio varianto c.9511G>A, p.(Ala3171Thr), rs1276306534 heterozigotinis genotipas. Šis 27-ame egzone esantis *missense* variantas lemia aminorūgšties alanino pakaitą treoninu baltymo 3171-oje pozicijoje, PLAT domene. Jame, *UniProt* duomenimis, 81 proc. nustatytų variantų yra patogeniniai. *GnomAD* projekte nustatytas varianto dažnis bendrojoje populiacijoje 0,0000006207, o kontrolinėje grupėje jis nenustatytas. *In silico* patogeniškumo prognozavimo įrankių įvertimai numato patogeninį šio varianto poveikį. Alternatyvus pokytis c.9511G>C, p.(Ala3171Pro) PKDB duomenų bazėje vertinamas kaip tikėtina patogeninis.

44 metų pacientei inkstų cistos nustatytos sulaukusiai 15 metų, kai buvo tirta dėl inkstų akmenligės priepuolio. Atliktame ultragarsiniame tyrime dešinysis inkstas 216 x 114 mm dydžio, kairysis inkstas sunkiai išsiskiria iš aplinkinių audinių, kontūrai nelygūs, abipusės daugybinės cistos, kai kurios su pertvarėlėmis ar kalcinatais. Kepenys nepadidėjusios, jų kontūrai lygūs,

jose kelios cistos. Galvos smegenyse aneurizmų nenustatyta. Pacientė serga lėtine inkstų liga, G3b stadija (aGFG 43 ml/min/1,73m², kreatininas 131 μmol/l, šlapalas 11,4 mmol/l, šlapimo rūgštis 328 μmol/l), arterine hipertenzija, nustatyta saiki kairiojo skilvelio hipertrofija. Šeimos istorija neigiama. Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *PKDI* geno tikėtina patogeninio varianto c.7095del, p. (Ile2365Metfs*17) heterozigotinis genotipas. Ši 17-ame egzone esanti vieno nukleotido iškrita lemia skaitymo rėmelio poslinkį ir koduojamo baltymo sutrumpėjimą; paveikia funkcinį REJ domeną. Variantas nebuvo nustatytas *GnomAD* projekto grupėse.

32 metų pacientui inkstų cistos yra nuo vaikystės, klinikinė diagnozė nebuvo apibrėžta. Inkstų ultragarsiniame tyrime – inkstai normalaus dydžio, juose daugybinės cistos iki 2–3 cm, daugybiniai akmenys iki 6 mm. Nuo 25 metų serga arterine hipertenzija, inkstų funkcija nedaug sumažėjusi (aGFG 62 ml/min/1,73m², kreatininas 102 μmol/l). Šeimos istorija neigiama. Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *PKDI* geno tikėtina patogeninio varianto c.6262dup, p.(Arg2088Profs*20) heterozigotinis genotipas. Ši 15-ame egzone esanti vieno nukleotido duplikacija lemia skaitymo rėmelio poslinkį ir paveikia funkcinį domeną PKD 17. Variantas nebuvo nustatytas *GnomAD* projekto grupėse. *In silico* patogeniškumo prognozavimo įrankis *Mutation Taster* numato patogeninį šio varianto poveikį.

42 metų pacientė konsultuota dėl kairiojo policistinio inksto (vienpusės PIL). Cistos inkste nustatytos vaikystėje, taip pat visą gyvenimą nustatoma kraujo šlapime. Vaizdiniuose tyrimuose kairiojo inksto policistozės vaizdas – daugybiniai cistiniai židiniai, didžioji dalis su pakraujavimo požymiais, dalis būdingi paprastoms cistoms, dalies turinys baltyminis. Kepenys be cistų, galvos smegenyse aneurizmų nenustatyta. Arterinė hipertenzija pacientei nenustatyta, inkstų funkcija nesutrikusi (aGFG 91 ml/min/1,73m², kreatininas 71 μmol/l, šlapalas 6,0 mmol/l, šlapimo rūgštis 317 μmol/l), šlapime eritrocitų 300 ery/μl. Šeimoje senelė galbūt turėjo inkstų cistų, jai buvo hematurija. Objektyviai matoma pacientės veido asimetrija (dešinė > kairė), dešinė pėda vienu dydžiu didesnė už kairę, pati pacientė pažymi nevienodą kūno plaukuotumą kairėje ir dešinėje pusėje. Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *PKDI* geno tikėtina patogeninio varianto c.4760G>A, p.(Arg1587His), rs772402581 heterozigotinis genotipas. Šis 15-ame egzone esantis *missense* variantas lemia aminorūgšties arginino pakaitą histidinu baltymo 1587-oje pozicijoje. Šioje karštojoje srityje, ±8 aminorūgščių intervale, yra dvi aminorūgštys su patogeniniais *missense* variantais ir nė vieno nepatogeninio varianto. *GnomAD* projekte nustatytas varianto dažnis bendrojoje populiacijoje 0,000006202, o kontrolinėje grupėje jis nenustatytas.

Dalis *in silico* patogeniškumo prognozavimo įrankių įverčių numato patogeninį šio varianto poveikį. Toje pačioje pozicijoje esančios aminorūgšties alternatyvus pokytis p.(Arg1587Cys) aprašytas literatūroje kaip policistinė inkstų ligą lemiantis variantas (PMID: 24611717).

Papildomai nustatytas *COL4A4* geno heterozigotinis variantas c.1820C>A, p.(Ala607Glu), kuris šiuo metu klasifikuojamas kaip neaiškos klinikinės reikšmės. *COL4A4* geno heterozigotinio genotipo patogeniniai pokyčiai siejami su gerybine šeimine hematurija.

37 metų pacientui pirmą kartą atsitiktinai nustatytos inkstų cistos. Atliktame ultragarsiniame tyrime buvo matyti daugybinių parenchiminės cistos abiejuose inkstuose ir daugybinių kepenų cistos. Paciento inkstų funkcija nesutrikusi (aGFG 111 ml/min/1,73m², kreatininas 76 μmol/l), arterinis kraujospūdis nepadidėjęs, o šeimos istorija neigiama. Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *PKD2* geno patogeninio varianto c.992G>T, p.(Cys331Phe), rs1578130536 heterozigotinis genotipas. Šis *missense* variantas, esantis 4-ame egzone, lemia aminorūgšties cisteino pakaitą fenilalaninu baltymo 331-oje pozicijoje ir jonų kanalo funkcijos praradimą. Šioje karštojoje srityje, apimančioje 17 aminorūgščių, yra nustatyta 12 *missense* ar skaitymo rėmelyje esančių variantų (iš jų 6 patogeniniai, 6 neaiškos klinikinės reikšmės). *GnomAD* projekto grupėse šis variantas nebuvo nustatytas. *In silico* patogeniškumo prognozavimo įrankių įverčiai numato patogeninį šio varianto poveikį. *ClinVar* duomenų bazėje pateiktas alternatyvus variantas (c.992G>C, p.(Cys331Ser)) klasifikuojamas kaip tikėtina patogeninis. Kitas alternatyvus variantas (c.992G>A, p.(Cys331Tyr)) *ClinVar* duomenų bazėje vertinamas analogiškai ir yra aprašytas literatūroje (PMID: 32457805).

57 metų pacientei inkstų cistos pirmą kartą nustatytos sulaukusiai maždaug 45 metų, kai ji tyrėsi dėl buvusio juosmens maudimo, padidėjusio arterinio kraujospūdžio. Vaizdiniuose tyrimuose matyti, kad inkstai padidėję, jų kontūras deformavęsis, abiejuose inkstuose daugybinių cistos. Inkstų funkcija labiau nesutrikusi (aGFG 90 ml/min/1,73m², kreatininas 66 μmol/l). Šeimoje dukteriai nustatytos inkstų cistos. Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *PKD2* geno tikėtina patogeninio varianto c.2523-5_2525del, p.(?) heterozigotinis genotipas. Šis 13-ame introne esantis variantas lemia jungimosi akceptoriaus pokytį, apimančią konservatyvaus nukleotido pakitimą. Variantas nebuvo nustatytas *GnomAD* projekto kontrolinėse grupėse. Nustatytas pokytis apima literatūroje aprašytą patogeninį variantą c.2523-1G>A (rs1553928728, PMID: 21551026), lemiantį pakitusį iRNR sukirpimą.

12 lentelė. Tyrime nustatyti neaiškos klinikinės reikšmės variantai siejami su autosominio dominantinio paveldėjimo policistine inkstų liga.

Šeimų skaičius	Variantas	ACMG	GnomAD: bendroji populiacija; kontrolinė grupė	<i>In silico</i> analizė: CADD, GERP, SIFT, Mutation Taster, SpliceAI	Variantų identifikacinis numeris; šaltinis
<i>PKD1</i> genas (NM_001009944.3)					
1	c.1396G>A, p.(Val466Met)	PM1, PM2	6,335e-7; –	28; 4,8; 0,005; 1; 0,14	rs2855341; PMID: 32398770, ClinVar, PKDB
1	c.1261C>T, p.(Arg421Cys)	PM1, PM2	0,000002484; –	32; 4,1; 0,017; 1; 0,0	rs1567216536; PMID: 23985799, ClinVar
1	c.665C>A, p.(Ala222Glu)	PM5, PM1, PM2, PP3	–; –	21; 1,6; 0,007; 1; 0,01	rs1567218284; ClinVar
1	c.11665G>T, p.(Ala3889Ser)	PM1	0,0000143; –	7,4; –1,2; 0,91; –; 0,0	rs1300036375; PMID: 36573973, ClinVar
1	c.5585_5587del, p.(Phe1862del)	PM4, PM2, BP4	–; –	–; –; –; –; 0,0	Naujas
1	c.12029_12030del, p.(Arg4010Profs*146)	PVS1, PM2	–; –	–; –; –; 1; 0,04	Naujas
1	c.8378T>G, p.(Leu2793Arg)	PM1, PM2, PP3	–; –	22; 4,6; 0,0; 1; 0,0	Naujas
1	c.9014A>C, p.(Gln3005Pro)	PM1, PM2	–; –	18; 2,3; 0,043; 1; 0,03	Naujas

12 lentelės tęsinys

Šeimų skaičius	Variantas	ACMG	GnomAD: bendroji populiacija; kontrolinė grupė	<i>In silico</i> analizė: CADD, GERP, SIFT, Mutation Taster, SpliceAI	Varianto identifikacinis numeris; šaltinis
<i>PKD2</i> genas (NM_000297.4)					
2	c.843+3A>G, p.(?)	PP3, PM2	–; –	14; –; –; –; 0,89	ClinVar, PKDB
1	c.747_779del, p.(Thr250_Thr260del)	PP3, PM2	–; –	–; –; –; 0,99; –	Naujas
1	c.595+4del, p.(?)	PP3	–; –	–; –; –; 0,82	Naujas

Paaikškinimai: ACMG – genomo variantų patogeniškumo vertinimo kriterijai (angl. *Genome Aggregation Database*).
 tarptautinė genomo ir egzomo sekoskaitos duomenų bazė (angl. *Genome Aggregation Database*).
In silico analizė: CADD (<http://cadd.gs.washington.edu/>), GERP (genominės evoliucijos greičio profiliavimo rezultatas, kuo didesnis įvertis, tuo konservatyvesnė sritis),
 SIFT (<http://sift.jcvi.org>), *Mutation Taster* (<https://www.mutationtaster.org/>) ir *SpliceAI* (<https://spliceai.broadinstitute.org/>) programos.
 Šaltinis: PMID – straipsnio identifikacinis numeris *PubMed* duomenų bazėje (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), *ClinVar* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>),
 PKDB – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinės inkstų ligos *PKD1* ir *PKD2* genų variantų duomenų bazė (<http://pkdb.mayo.edu>).

4.3.3. Pacientams nustatytų neaiškos klinikinės reikšmės variantų ir jų fenotipų charakterizavimas

Šiame tyrime pacientams, kuriems pasireiškė policistinės inkstų ligos fenotipas, buvo nustatyti *PKD1* ir *PKD2* genų variantai, kurie formaliai klasifikuoti kaip neaiškos klinikinės reikšmės. Iš jų šeši variantai buvo nauji, o keturi aprašyti medicininėje literatūroje arba duomenų bazėse.

Žinomo *PKD1* geno *missense* tipo varianto c.1396G>A, p.(Val466Met) patogeniškumo klasifikacija literatūroje ir *ClinVar* duomenų bazėje, kurią pateikia diagnostinės laboratorijos, yra prieštaringa (2 – P, 2 – TP, 3 – NRV) pacientams, sergantiems policistine inkstų liga (118–121). PKDB duomenų bazėje variantas pateiktas kaip neaiškos klinikinės reikšmės. Mūsų kohortoje šis variantas nustatytas 50 metų pacientei, kuriai pasireiškė policistinė inkstų liga ir kepenų policistozė, šeimos istorija buvo neigiama. Nustatytas variantas yra koduojamo baltymo C tipo lektino domene, kuriame, *UniProt* duomenimis, 85 proc. nustatytų variantų yra patogeniniai. Todėl manome, jog šis variantas galėtų būti laikomas tikėtina patogeniniu.

Kitas *PKD1* geno *missense* tipo variantas c.1261C>T, p.(Arg421Cys) *ClinVar* duomenų bazėje pateikiamas su prieštariniais patogeniškumo vertinimais (2 – P, 1 – TP, 1 – NRV). Jis buvo nustatytas keliems asmenims, sergantiems policistine inkstų liga, keliuose nepriklausomuose tyrimuose (120, 122, 123). Mūsų tyrime šis variantas nustatytas 38 metų pacientei, kuriai kliniškai diagnozuota ADPIL, esant policistiniams inkstams, kepenų policistozei ir teigiamai šeimos istorijai. Todėl manome, kad šis variantas turėtų būti laikomas tikėtina patogeniniu.

Kitas *PKD1* geno *missense* tipo variantas c.665C>A, p.(Ala222Glu) randamas *ClinVar* duomenų bazėje, kur variantą pateikusios kelios diagnostinės laboratorijos jį klasifikuoja kaip neaiškos klinikinės reikšmės. Tačiau alternatyvus variantas toje pačioje aminorūgšties pozicijoje, p.(Ala222Pro), literatūroje yra aprašytas kaip tikėtina patogeninis (PMID: 32816041). Mūsų kohortoje 56 metų pacientei, kuriai buvo nustatytas variantas c.665C>A, kliniškai diagnozuota ADPIL, esant policistiniams inkstams, kepenų policistozei ir teigiamai šeimos istorijai. Manome, jog šis variantas taip pat turėtų būti laikomas tikėtina patogeniniu.

Dar vienas *missense* tipo variantas c.11665G>T, p.(Ala3889Ser) kaip neaiškos klinikinės reikšmės pateiktas *ClinVar* duomenų bazėje ir aprašytas literatūroje 71 metų pacientui, sergančiam atipine ADPIL (124). Dauguma *in silico* prognozavimo įrankių numato nepatogeninį šio varianto poveikį. Mūsų tyrime šis variantas nustatytas 30 metų pacientei, kuriai susidariusios abipusės

parenchiminės cistos, tačiau jai nenustatyta aiški klinikinė ADPIL diagnozė ir šeimoje nėra sergančiųjų šia liga..

Kiti nustatyti *PKD1* geno neaiškos klinikinės reikšmės variantai buvo nauji. Skaitymo rėmelyje esanti delecija c.5585_5587del, p.(Phe1862del) nustatyta 50 metų pacientui, sergančiam policistine inkstų liga, kuriam yra galvos smegenų aneurizma ir kurio šeimos istorija teigiama; kepenyse cistų nenustatyta. Skaitymo rėmelio poslinkį lemiantis variantas c.12029_12030del, p.(Arg4010Profs*146) nustatytas 51 metų pacientei, sergančiai policistine inkstų liga ir kepenų cistomis; jos šeimos istorija teigiama. Šioje srityje esantis *missense* variantas (c.12029G>A, p.(Arg4010His)) *ClinVar* duomenų bazėje klasifikuojamas kaip neaiškos klinikinės reikšmės. *Missense* variantas c.8378T>G, p.(Leu2793Arg) mūsų tyrime nustatytas 46 metų pacientei, sergančiai policistine inkstų ir kepenų liga, tačiau jos šeimos istorija neigiama.

Kitas *missense* variantas c.9014A>C, p.(Gln3005Pro) nustatytas 22 metų pacientui, kuriam kliniškai diagnozuota ADPIL, o variantą jis paveldėjo iš sergančios motinos. Alternatyvus tos pačios aminorūgšties *nonsense* variantas p.(Gln3005*) PKDB duomenų bazėje vertinamas kaip patogeninis, tačiau šiuo atveju pasireiškia policistiną 1 trumpinantis poveikis.

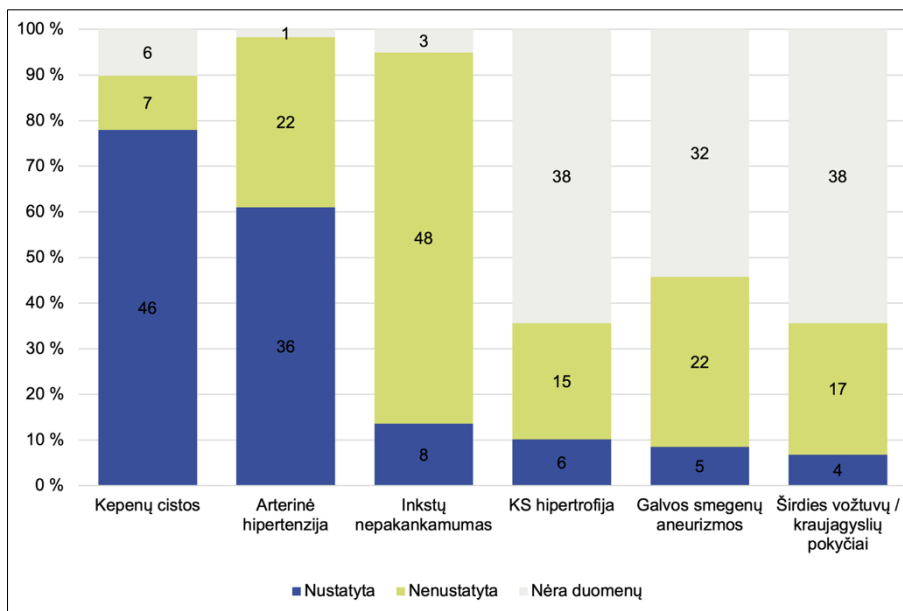
PKD2 gene žinomas splaisingo alternatyvaus sukirpimo variantas c.843+3A>G, p.(?) *ClinVar* duomenų bazėje pateiktas kaip neaiškos klinikinės reikšmės, o PKDB – kaip tikėtina patogeninis. Mūsų tyrime šis variantas nustatytas dviejose šeimose. Vienoje šeimoje jis nustatytas 40 metų pacientei, sergančiai policistine inkstų liga ir kepenų policistozė, taip pat jos 14 metų ir 4 metų dukterims, turinčioms inkstų cistų. Kitoje šeimoje variantas nustatytas 40 metų vyrui, kuriam diagnozuota klinikinė ADPIL, aptiktos daugybinės inkstų parenchimos cistos, kelios kepenų cistos ir jo šeimos istorija teigiama. Atsižvelgiant į tyrimo duomenis, šis variantas galėtų būti laikomas tikėtina patogeniniu, nes tyrime jis nustatytas keturiems pacientams iš dviejų negiminingų šeimų, kuriose diagnozuota policistinė inkstų liga. Taip pat *in silico* splaisingą prognozuojantys įrankiai numato šio varianto poveikį alternatyviam sukirpimui. Tačiau reikalingi funkciniai šių pacientų mėginių tyrimai, siekiant įrodyti splaisingo varianto poveikį.

PKD2 gene nustatyti du nauji neaiškos klinikinės reikšmės variantai. Skaitymo rėmelio viduje esanti iškrita c.747_779del, p.(Thr250_Thr260del) nustatyta 56 metų vyrui, kuriam diagnozuota ADPIL. Nustatyto pokyčio sritis apima 2 literatūroje aprašytus policistinę inkstų ligą lemiančius variantus: CM173929 ir CM1619843. Splaisingo variantas c.595+4del, p.(?) nustatytas 16 metų pacientei, sergančiai policistine inkstų liga; pacientės šeimos istorija

teigiama. *In silico* splaisingą prognozuojantys įrankiai numato šio varianto poveikį alternatyviam sukirpimui.

4.3.4. Pacientų, kuriems nustatyta genetinė ADPIL diagnozė, klinikinių požymių apibendrinimas

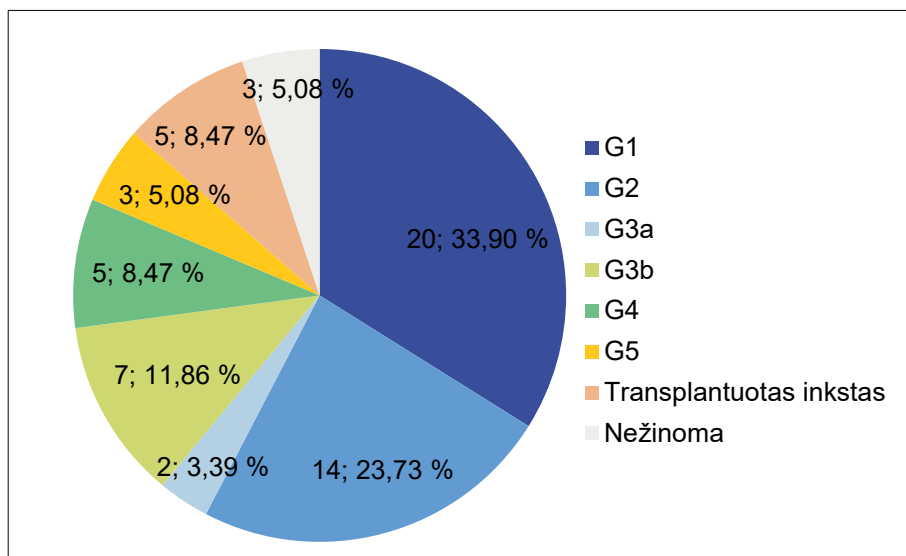
Klinikiniai požymiai apibendrinti 59-iems suaugusiesiems iš 53-ųjų šeimų, kuriose nustatyti diagnostiniai variantai su ADPIL siejamuose genuose (*PKD1*, *PKD2*) (žr. 20 pav.). Šioje grupėje kepenų cistos ar policistinė kepenų liga nustatyta 46-iems (77,97 proc.) pacientams. Iš jų vienai pacientei, kai buvo 46 metų, dėl policistinės kepenų ligos atlikta kepenų transplantacija. Kita dažna komplikacija buvo arterinė hipertenzija, ji nustatyta 36-iems (61,02 proc.) pacientams. Aštuoniems pacientams (13,56 proc.) buvo išsivystęs inkstų funkcijos nepakankamumas arba jau atlikta inksto transplantacija; jauniausias iš šių pacientų buvo 36 metų. Papildomai 6-iems (10,17 proc.) pacientams nustatyta kairiojo skilvelio hipertrofija, 5-iems (8,47 proc.) galvos smegenų aneurizmos ir 4-iems (6,78 proc.) širdies vožtuvų ar kraujagyslių pokyčių. Tai apėmė pacientus, kuriems nustatyta Barlow liga, dviburis aortos vožtuvas, vienam pacientui nustatyta aortos šaknies ir kylančiosios aortos dilatacija, o vienai 29 metų pacientei buvo atlikta kylančiosios aortos aneurizmos šalinimo operacija ir aortos vožtuvo protezavimas. Tačiau tik mažiau nei pusei buvo atlikti klinikiniai tyrimai, vertinant dėl šių požymių. Vienai pacientei šioje grupėje pasireiškė vienvusė policistinė inkstų liga.



20 pav. Pagrindinių fenotipo požymių dažnis ADPIL grupėje.

Paaiškinimas: KS – kairysis skilvelis.

Detaliau lėtinės inkstų ligos stadijų pasiskirstymas ADPIL grupėje pavaizduotas 21 pav. Daugiau nei pusei suaugusių ADPIL pacientų inkstų funkcija išliko normali, nedaug ar vidutiniškai sumažėjusi.



21 pav. Lėtinės inkstų ligos stadijų pasiskirstymas suaugusių pacientų, kuriems nustatyta autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga, grupėje.

4.3.5. Autosominio dominantinio paveldėjimo policistinės inkstų ligos klinikinių variantų įvairovę papildantys atvejai

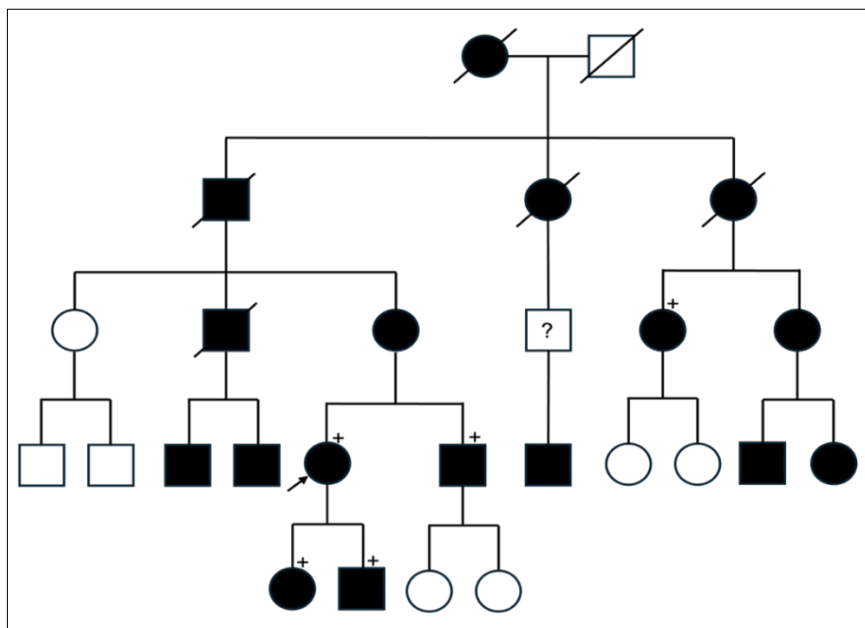
Didžiausia tyrime analizuota šeima yra, kurioje probandei, 37 metų pacientei, inkstų cistos nustatytos nuo paauglystės. Atliktame ultragarsiniame tyrime matomi policistiniai inkstai (kairys 170 x 85 mm, dešinys 160 x 80 mm dydžio), nustatyta lėtinė inkstų liga, G1 stadija (aGFG 94 ml/min/1,73m², kreatininas 71 μmol/l, šlapalas 5,1 mmol/l, šlapimo rūgštis 253 μmol/l). Taip pat nustatyta kepenų policistozė: kepenys padidėjusios (177 mm), nehomogeniškos struktūros, audinio echogeniškumas netolygus, daugybinės cistos, kontūrai nelygūs. Pacientei tikslingai atlikus galvos smegenų magnetinio rezonanso tyrimą, buvo nustatytos dvi intrakranijinės aneurizmos ir atliktas chirurginis gydymas, po kurio sumažėjo regėjimo laukas dešine akimi. Remiantis genealogijos duomenimis, nustatytas autosominis dominantinis paveldėjimo būdas, šeimoje nurodyta daug policistine inkstų liga sergančių asmenų (žr. 22 pav.). Naudojantis NKS tyrimo duomenimis nustatytas *PKDI* geno patogeninio varianto c.5014_5015del, p.(Arg1672Glyfs*98) heterozigotinis genotipas. Šis variantas, esantis geno 15-ame egzone, lemia skaitymo rėmelio poslinkį; variantas daug kartų aprašytas literatūroje ADPIL sergantiems asmenims (PMID: 17582161, 22185115, 29633482). Segregacijos analizei atvyko keli policistinės inkstų ligos požymių turintys pacientės šeimos nariai, kuriems Sangerio sekoskaitos tyrimu nustatytas šeiminis *PKDI* geno variantas (žr. 23 pav.).

12 metų turinčiai pacientės dukteriai ultragarsiniame tyrime aprašyti inkstai: jie normalaus dydžio (kairysis 110 mm, dešinysis 105 mm), lygiais kontūrais; parenchimų echogeniškumas normalus, matoma kortikomedulinė diferenciacija, abipus vidutiniškai gausios paprastos cistos, kairiajame inkste iki ~ 16 mm skersmens, dešiniajame inkste iki ~ 10 mm, kelios cistos su ne visai kietų kalcinātų tarpais. Inkstų funkcija nesutrikusi (aGFG 112 ml/min/1,73m², kreatininas 54 μmol/l, šlapalas 4,28 mmol/l). Kepenyse cistų nenustatyta.

Devynerių metų pacientės sūnui ultragarsiniame tyrime aprašyti inkstai: jie normalaus dydžio (kairysis 102 mm, dešinysis 96 mm), lygiais kontūrais; parenchimų echogeniškumas normalus, matoma kortikomedulinė diferenciacija, abipus gausios smulkios kelių milimetrų skersmens paprastos cistos, kelios kairiajame inkste iki ~ 7 mm skersmens, dešiniajame inkste iki ~ 8 mm, kelios cistos su ne visai kietų kalcinātų tarpais. Inkstų funkcija nesutrikusi (aGFG 125 ml/min/1,73m², kreatininas 44 μmol/l, šlapalas 4,43 mmol/l). Kepenyse cistų nenustatyta.

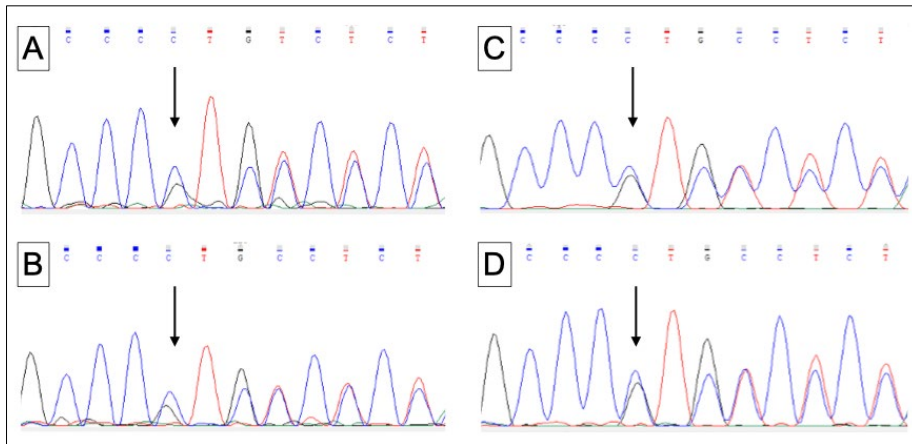
35 metų pacientės broliui inkstų cistos nustatytos nuo maždaug 13–14 metų. Pilvo ultragarsiniame tyrime matomi policistiniai inkstai: dešinysis inkstas 185 x 100 mm, kairysis inkstas 180 x 100 mm dydžio, abu su daugybinėmis cistomis parenchimoje, nelygiais kontūrais. Serga lėtine inkstų liga, G2 stadija (aGFG 82 ml/min/1,73m², kreatininas 102 μmol/l, šlapalas 5,9 mmol/l, šlapimo rūgštis 305 μmol/l). Taip pat nustatyta kepenų policistozė: kepenys nepadidėjusios (155 mm), nehomogeniškos struktūros, parenchimoje daugybinės smulkios cistos iki 20 mm, kontūrai nelygūs. Galvos smegenyse arterijų aneurizmų nenustatyta.

64 metų pacientės antros eilės tetai policistinė inkstų liga nustatyta nuo 30 metų, o nuo 47 metų pradėtos hemodializės dėl inkstų funkcijos nepakankamumo. Pacientei dažnai kartojosi šlapimo takų infekcijos, todėl ruošiant inksto transplantacijai, kai buvo 50 metų, jai atlikta abipusė nefrektomija, o po metų – inksto transplantacija. Prieš nefrektomiją atliktame ultragarsiniame tyrime – dešinysis inkstas 186 x 111 mm dydžio, parenchimoje daugybinės iki 24 mm dydžio cistos; kairysis inkstas 184 x 113 mm dydžio, parenchimoje daugybinės iki 61 mm dydžio cistos. Taip pat pacientei nustatyta kepenų policistozė ir širdies ultragarsiniame tyrime saiki simetrinė kairiojo skilvelio hipertrofija. Nuo maždaug 49 metų vartoja antihipertenzinius vaistus. Galvos smegenyse arterijų aneurizmų nenustatyta.



22 pav. Genealogija.

Juoda spalva pažymėti asmenys, sergantys policistine inkstų liga; rodyklė nurodo probandę; + ženklą pažymėti asmenys, kuriems nustatytas *PKD1* geno variantas c.5014_5015del.



23 pav. *PKD1* geno šeiminio varianto c.5014_5015del sekvenogramos.

A – pacientės dukters, B – sūnaus, C – brolio, D – tetos.

Kitoje šeimoje 44 metų pacientei policistinė inkstų liga pirmą kartą nustatyta, kai jai buvo 20 metų. Sulaukusiai 21 metų, atlikta kairės pusės nefrektomija, o 39 metų – dešinės pusės. Dvejų metų laikotarpiu pakartotinai atlikta inksto transplantacija. Kai buvo 29 metų, atlikta kylančiosios aortos aneurizmos šalinimo operacija ir aortos vožtuvo protezavimas. Pilvo ultragarsiniame tyrime buvo matyti, kad kepenys nepadidėjusios, jų kontūras lygus, parenchimoje matomos pavienės smulkios cistos iki 14 mm dydžio. Pacientė serga arterine hipertenzija. Objektivos apžiūros metu pacientei nustatytas plaštakų sąnarių hiperomobilumas, kitų sąnarių amplitudė buvo normos ribose, tačiau, pasak pacientės, jaunystėje ji gebėjo atlikti špagatus. Remiantis genealogijos duomenimis, nustatytas autosominis dominantinis paveldėjimas – policistine inkstų liga serga pacientės sūnus. Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *PKD1* geno patogeninio varianto c.12608_12635del, p.(Arg4203Profs*146) heterozigotinis genotipas. Šis variantas, esantis geno 46-ame egzone, lemia skaitymo rėmelio poslinkį ir yra aprašytas literatūroje (PMID: 32097206).

Segregacijos analizei atvyko pacientės 22 metų sūnus, kai pirmą kartą kliniškai buvo nustatyta ADPIL. Pilvo ultragarsiniame tyrime aprašyta abipusė inkstų policistozė, dalies cistų turinys neskaidrus, dalies su pertvaromis ir kalcinatais. Kepenų cistų ir arterijų aneurizmų galvos smegenyse nenustatyta. Inkstų funkcija nesutrikusi (aGFG 102 mL/min/1,73m², kreatininas 92 μmol/l, šlapalas 5,2 mmol/l). Sangerio sekoskaitos tyrimu nustatytas *PKD1* geno šeiminis variantas, paveldėtas iš motinos.

47 metų pacientei policistinė inkstų liga nustatyta nuo 15 metų, kepenų policistozė diagnozuota nuo 22 metų, nuo maždaug 35 metų padidėjęs

arterinis kraujospūdis. Pacientei smarkiai progresavo kepenų liga, nuo 38 metų stebėta tretinio lygio gydytojų gastroenterologų. Palaipsniui didėjo pilvo apimtis, jautė mechaninį spaudimą po dešiniu šonkaulių lanku, atsirado spaudimas į skrandį ir kitus pilvo organus, todėl pacientė 42 metų buvo įtraukta į kepenų transplantacijos recipientų sąrašą. Tuo metu atliktame kepenų magnetinio rezonanso tomografijos tyrime kepenys aprašytos taip: labai padidėjusios (dešinioji skiltis 280 mm), kontūrai banguoti, daugybinės cistos; aukšta dešiniojo diafragmos skliauto padėtis, dešiniojo plaučio apatinių segmentų kompresinė atelektazė, spaudžiamas dešinysis prieširdis, apatinė tuščioji vena. Pacientei, sulaukusiai 46 metų, atlikta ortotopinė kepenų transplantacija. Tuo metu pacientė sirgo LIL, G3b stadija (aGFG 36 mL/min/1,73m², kreatininas 149 μmol/l, šlapalas 11,9 mmol/l, šlapimo rūgštis 425 μmol/l). Kairysis inkstas 230 x 100 mm, dešinysis inkstas 213 x 117 mm. Remiantis genealogijos duomenimis, nustatytas autosominis dominantinis paveldėjimas – policistine inkstų liga serga sūnus, duktė, motina bei senelis ir dėdė iš motinos pusės. Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *PKD1* geno tikėtina patogeninio varianto c.1350del, p.(Ala451Profs*14) heterozigotinis genotipas. Šis variantas, esantis geno 6-ame egzone, lemia skaitymo rėmelio poslinkį ir mokslinėje literatūroje neaprašytas, tačiau minimas PKDB duomenų bazėje.

4.4. *PKD1/PKD2* genų variantų poveikio fenotipui įvertinimas

Šiame tyrime buvo nustatyta 50 skirtingų *PKD1* geno variantų 54-iose šeimose. Iš jų diagnostiniais laikyti 42 variantai, nustatyti 46-iose šeimose. Šie variantai apėmė 14 *nonsense*, 13 skaitymo rėmelio poslinkio, 7 *missense*, 4 splaisingo variantus, 3 delecijas skaitymo rėmelyje ir vieną didelę deleciją, apimančią kelis egzonus.

Tyrime nustatyta 11 skirtingų *PKD2* geno variantų 14-oje šeimų. Iš jų diagnostiniais laikyti 8 variantai, nustatyti 10-yje šeimų. Šie variantai apėmė 5 *nonsense*, 1 splaisingo, 1 skaitymo rėmelio poslinkio ir 1 *missense* variantą.

Nustatytų diagnostinių variantų tipų pasiskirstymas šeimose parodytas 24 pav.

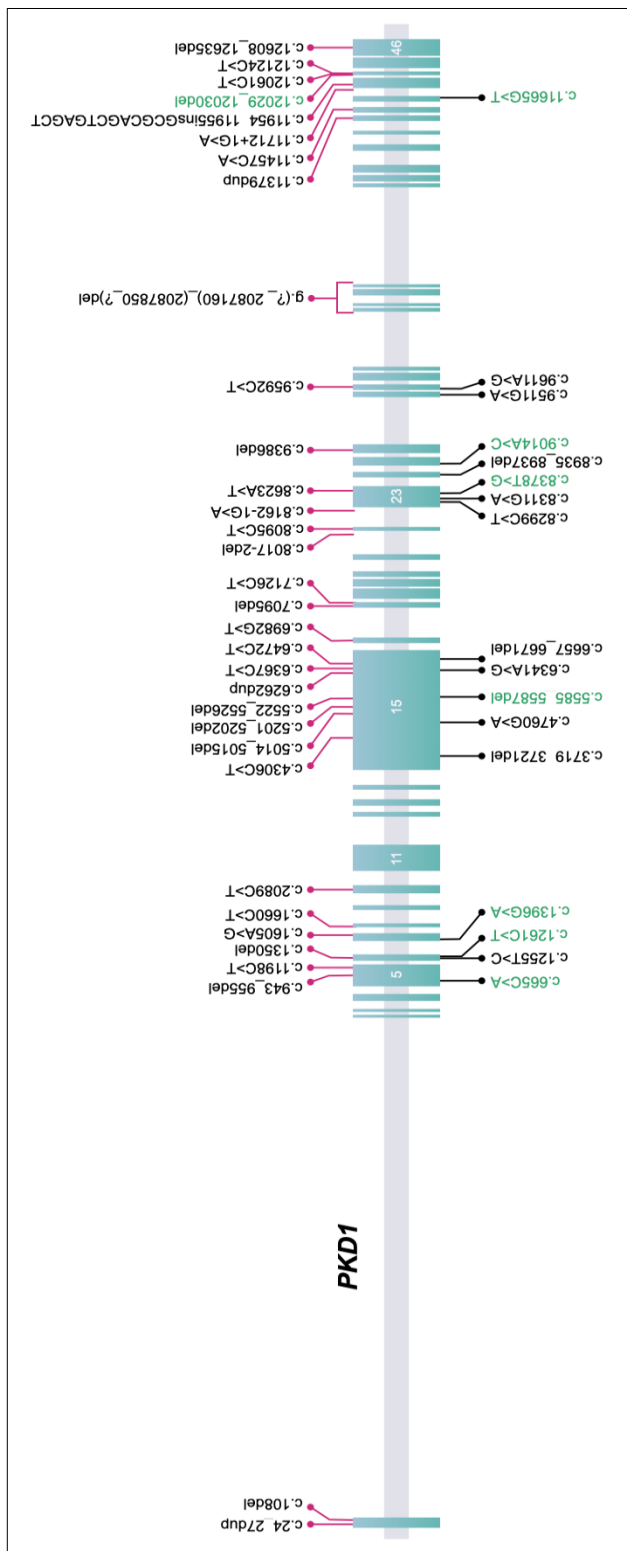


24 pav. Nustatytų *PKD1* ir *PKD2* genų variantų tipų pasiskirstymas šeimose.

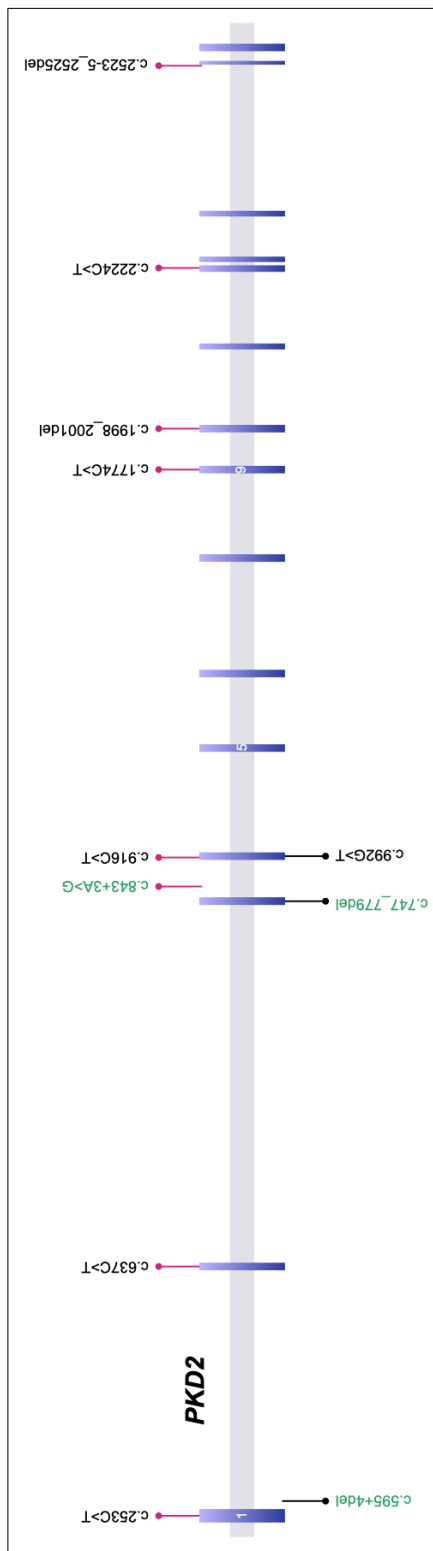
Paaškinimai: NRV – neaiškos reikšmės variantas, SRP – skaitymo rėmelio poslinkio.

Nustatytų variantų pasiskirstymas rodo, jog *PKD1* geno variantai sudaro didžiąją dalį, taip pat matoma didesnė nustatytų variantų tipų įvairovė, palyginti su *PKD2* genu. *PKD1* gene dažniausiai nustatyti *nonsense* tipo ir skaitymo rėmelio poslinkį lemiantys variantai, kartu sudarę daugiau nei pusę nustatytų variantų šiame gene. Tai rodo, kad dauguma variantų yra baltymą trumpinantys, todėl greičiausiai sukelia baltymo funkcijos praradimą. *PKD2* gene vyravo *nonsense* variantai, o kitų tipų variantai buvo reti arba jų nenustatyta.

Visi tyrime nustatyti *PKD1* ir *PKD2* genų variantai pažymėti 25 pav. ir 26 pav., atsižvelgiant į jų galimą baltymą trumpinantį poveikį.



25 pav. *PKD1* geno schema, kurioje pažymėti tyrime nustatyti variantai. Raudonos linijos žymi baltymą trumpinančius variantus, juodos linijos – baltymo netrumpinančius variantus. Juoda spalva užrašyti patogeniniai ir tikėtina patogeniniai variantai, žalia spalva – neaiškios reikšmės variantai. *PKD1* geno vaizdavimas iš UCSC Genome Browser, Hg19.



26 pav. *PKD2* geno schema, kurioje pažymėti tyrime nustatyti variantai. Raudonos linijos žymi baltymą trumpinančius variantus, juodos linijos – baltymo netrumpinančius variantus. Juoda spalva užrašyti patogeniniai ir tikėtina patogeniniai variantai, žalia spalva – neaiškios reikšmės variantai. *PKD2* geno vaizdavimas iš UCSC Genome Browser, Hg19.

13-oje lentelėje pateikti 57-ių suaugusių tiriamųjų, kuriems nustatyti *PKD1/2* genų baltymą trumpinantys ir baltymo netrumpinantys diagnostiniai variantai. Tiriamųjų amžius tarp grupių šiek tiek skyrėsi – asmenys, kuriems nustatyti netrumpinantys variantai, buvo vyresni (mediana 49 m.) negu tie, kurie turėjo trumpinančius variantus (mediana 37 m.), tačiau šis skirtumas nebuvo statistiškai reikšmingas ($p = 0,104$). Kadangi amžius gali turėti įtakos ligos progresavimui, buvo atlikta analizė pakoregavus pagal amžių, tačiau po korekcijos visų vertintų parametrų skirtumai tarp grupių išliko nereikšmingi.

Inkstų funkcijos rodikliai – aGFG, kreatinino, šlapalo ir šlapimo rūgšties koncentracija – tarp grupių buvo panašūs ir statistiškai reikšmingai nesiskyrė. Pažengusios lėtinės inkstų ligos (LIL, G4–5 stadijos) paplitimas tarp grupių buvo panašus – 21,28 proc. baltymą trumpinančių ir 30,0 proc. netrumpinančių variantų grupėje ($p = 0,409$). Reikšmingo skirtumo po amžiaus korekcijos taip pat neišryškėjo.

Reikšmingų skirtumų buvo nustatyta vertinant inkstų dydį. Inkstų ilgio matavimai parodė, kad abiejų grupių inkstų dydžiai buvo panašūs baltymą trumpinančių ir netrumpinančių variantų grupėse: dešiniojo inksto ilgis – 163,5 mm ir 165,5 mm ($p = 0,917$), kairiojo inksto ilgis – 179 mm ir 159,5 mm ($p = 0,132$). Tačiau po korekcijos pagal amžių nustatytas reikšmingas skirtumas kairiojo inksto ilgio atžvilgiu ($p = 0,019$), o tai rodo, jog jaunesniems pacientams, kuriems nustatyti baltymą trumpinantys variantai, gali būti didesnis inkstų tūris ir galbūt tai atspindi aktyvesnę cistų progresavimą. Arterinės hipertenzijos dažnis buvo panašus abiejose grupėse (61,7 proc. ir 60,0 proc., $p = 0,920$), kaip ir kepenų cistų ar policistozės paplitimas (80,85 proc. ir 80,0 proc., $p = 0,951$).

13 lentelė. Fenotipų palyginimas tarp pacientų, kuriems nustatyti *PKD1/2* genų baltymą trumpinantys ir baltymo netrumpinantys patogeniniai ir tikėtina patogeniniai variantai.

	Baltymą trumpinantys variantai (n = 47)	Baltymo netrumpinantys variantai (n = 10)	p reikšmė	p reikšmė (koregavus pagal amžių)
Amžius, m.	37 [30–50]	49 [40–51]	0,104	–
aGFG, ml/min/1,73m ²	87 [44–94]	75,5 [44,5–107,5]	0,905	0,414
Kreatininas, μmol/l	85 [71–134]	96 [76–154]	0,595	0,786
Šlapalas, mmol/l	5,9 [4,8–10,7]	7,5 [4,8–8,6]	0,785	0,486
Šlapimo rūgštis, μmol/l	328 [294–420]	350,5 [319–443]	0,747	0,914
LIL, G4–5 stadija	10 (21,28 proc.)	3 (30,00 proc.)	0,409	0,883
Dešiniojo inksto ilgis, mm	163,5 [139–195]	165,5 [130–209]	0,917	0,277
Kairiojo inksto ilgis, mm	179 [153,5–197]	159,5 [120–167]	0,132	0,019
Arterinė hipertenzija	29 (61,70 proc.)	6 (60,00 proc.)	0,920	0,345
Kepenų cistos / policistozė	38 (80,85 proc.)	8 (80,00 proc.)	0,951	0,732

Paaikškinimai: aGFG – apskaičiuotasis glomerulų filtracijos greitis; LIL – lėtinė inkstų liga.

14-oje lentelėje pateikiamas tiriamųjų fenotipinių požymių palyginimas vertinant pagal tai, kokiam gene nustatytas patogeninis ar tikėtina patogeninis variantas – *PKD1* ar *PKD2*.

Pacientų amžius tarp grupių nesiskyrė (*PKD1* grupėje mediana – 39 m., *PKD2* grupėje mediana – 42 m., $p = 0,470$). Reikšmingų skirtumų nustatyta lyginant inkstų funkcijos rodiklius. Kreatinino koncentracija buvo statistškai reikšmingai didesnė *PKD1* grupėje (mediana 93,5 μmol/l), palyginti su *PKD2* grupe (mediana 72 μmol/l, $p = 0,038$), o po korekcijos pagal amžių šis skirtumas dar labiau išryškėjo ($p = 0,005$). Analogiškai po korekcijos pagal amžių nustatyta, kad glomerulų filtracijos greitis buvo reikšmingai mažesnis *PKD1* grupėje (mediana 85 ml/min/1,73 m²) nei *PKD2* grupėje (mediana 90 ml/min/1,73 m²) ($p = 0,029$). Šie duomenys rodo, jog *PKD1* geno variantai yra susiję su ryškesniu inkstų funkcijos pablogėjimu. Panaši tendencija išryškėjo lyginant ir kitus biocheminius rodiklius. *PKD1* grupėje šlapimo rūgšties koncentracija buvo didesnė (mediana 347 μmol/l) nei *PKD2* grupėje (mediana 306,5 μmol/l), o koregavus pagal amžių nustatytas reikšmingas skirtumas ($p = 0,034$). Šlapalo koncentracija tarp grupių reikšmingai

nesiskyrė, nors *PKD1* grupėje rodiklis buvo didesnis.

Pažengusios lėtinės inkstų ligos (LIL, G4–5 stadijos) dažnis *PKD1* grupėje buvo šiek tiek didesnis (23,9 proc.) nei *PKD2* grupėje (18,2 proc.), tačiau šis skirtumas nebuvo statistiškai reikšmingas ($p = 0,16$). Vis dėlto, atsižvelgiant į mažą *PKD2* grupės imtį, šie rezultatai turėtų būti vertinami atsargiai.

Inkstų dydžio duomenų palyginimas statistiškai reikšmingų skirtumų neparodė, tačiau po korekcijos pagal amžių skirtumas kairiojo inksto ilgio atžvilgiu priartėjo prie reikšmingumo ribos ($p = 0,051$), o tai galėtų rodyti lėtesnį inkstų dydžio pokyčių progresavimą, esant nustatytiems *PKD2* geno variantams.

Arterinės hipertenzijos paplitimas buvo didesnis *PKD1* grupėje (67,4 proc.) nei *PKD2* grupėje (36,4 proc.), o po korekcijos pagal amžių šis skirtumas tapo statistiškai reikšmingas ($p = 0,025$). Kepenų cistų ar policistozės paplitimas tarp grupių nesiskyrė (80,43 proc. ir 81,82 proc., $p = 0,917$), o tai rodo, jog šis požymis nėra specifiskai labiau susijęs su vienu ar kitu genu.

14 lentelė. Fenotipų palyginimas tarp pacientų, kuriems nustatyti *PKD1* ir *PKD2* genų patogeniniai ir tikėtina patogeniniai variantai.

	<i>PKD1</i> genas (n = 46)	<i>PKD2</i> genas (n = 11)	<i>p</i> reikšmė	<i>p</i> reikšmė (koregavus pagal amžių)
Amžius, m.	39 [31–50]	42 [36–53,5]	0,470	–
aGFG, ml/min/1,73m ²	85 [43,5–98]	90 [69–105]	0,397	0,029
Kreatininas, μmol/l	93,5 [76,5–148]	72 [65,5–80,5]	0,038	0,005
Šlapalas, mmol/l	6,6 [4,9–10,7]	5,45 [4,5–7,7]	0,370	0,083
Šlapimo rūgštis, μmol/l	347 [314–434,5]	306,5 [244,5–342,5]	0,053	0,034
LIL, G4–5 stadija	11 (23,91 proc.)	2 (18,18 proc.)	0,16	0,364
Dešiniojo inksto ilgis, mm	139 [165–200]	152 [132–189]	0,408	0,305
Kairiojo inksto ilgis, mm	182 [156–200]	160 [145–168,5]	0,094	0,051
Arterinė hipertenzija	31 (67,39 proc.)	4 (36,36 proc.)	0,061	0,025
Kepenų cistos / policistozė	37 (80,43 proc.)	9 (81,82 proc.)	0,917	0,997

Paaiškinimai: aGFG – apskaičiuotasis glomerulų filtracijos greitis; LIL – lėtinė inkstų liga.

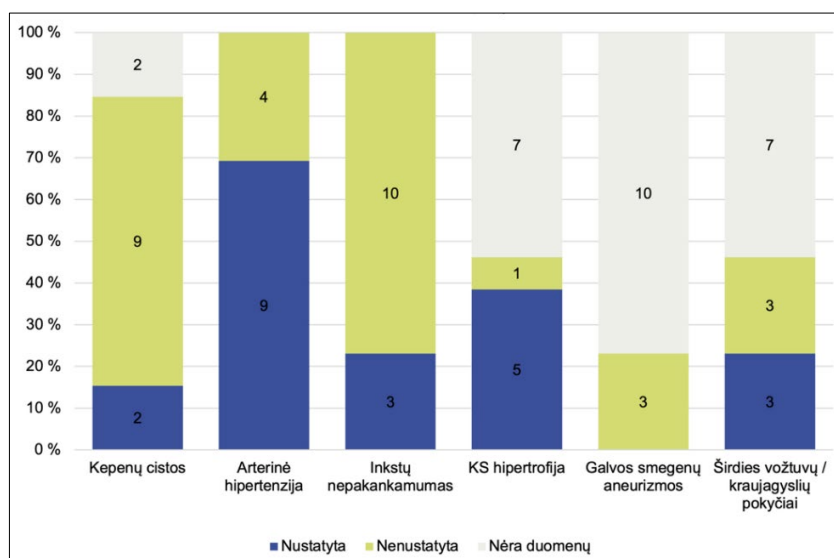
4.5. Ne ADPIL genotipų ir klinikinių variantų charakterizavimas

Iš viso kita, ne ADPIL, molekulinė diagnozė nustatyta 15-ai pacientų iš 13-os šeimų. Klinikiniai požymiai apibendrinti 13-ai suaugusių pacientų iš 11-os šeimų (žr. 15 lentelę). Šioje grupėje daugumai nustatytos daugybinės inkstų cistos, nesant specifinio cistinės inkstų ligos fenotipo. Tik keliems asmenims kliniškai nustatytas nefronoftizės ar autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinės inkstų ligos fenotipas. Vienam pacientui, atsižvelgiant į inkstų fenotipą, įtarta policistinė inkstų liga, tačiau genetiniu tyrimu nustatytas HANAC sindromas. Šioje grupėje taip pat dažnai nustatyta arterinė hipertenzija, kai kuriems pacientams – kairiojo skilvelio hipertrofija, kepenų cistos (žr. 27 pav.).

15 lentelė. Bendrosios charakteristikos suaugusių pacientų, kuriems nustatyta ne autosominio dominantinio paveldėjimo policistinės inkstų ligos diagnozė.

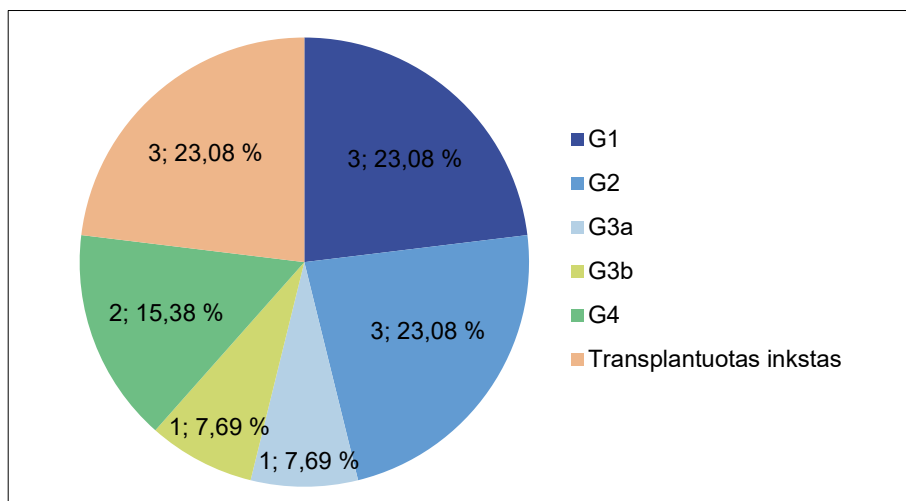
	Suaugusiųjų grupėje (n = 13)
Lytis, moteris	4 (30,77 proc.)
Lytis, vyras	9 (69,23 proc.)
Amžius, m.	43 [26–61]
aGFG, ml/min/1,73m ²	63,5 [30–95]
Kreatininas, µmol/l	104,5 [74–212]
Šlapalas, mmol/l	8,5 [5,6–20,45]
Šlapimo rūgštis, µmol/l	402 [371–426]
Dešiniojo inksto ilgis, mm	110 [94–111]
Kairiojo inksto ilgis, mm	105 [100–111]

Paaiškinimas: aGFG – apskaičiuotasis glomerulų filtracijos greitis.



27 pav. Pagrindinių fenotipo požymių dažnis suaugusių pacientų, kuriems nustatyta kita nei ADPIL diagnozė, grupėje.

Detaliau lėtinės inkstų ligos stadijų pasiskirstymas ne ADPIL grupėje pavaizduotas 28 pav. Sunkus inkstų funkcijos sutrikimas ar nepakankamumas nustatytas beveik pusei pacientų, iš kurių trims atlikta inksto transplantacija dėl su nefronoftize susijusios ciliopatijos.



28 pav. Lėtinės inkstų ligos stadijų pasiskirstymas suaugusių pacientų, kuriems nustatyta kita nei ADPIL diagnozė, grupėje.

Šioje tiriamųjų grupėje nustatyta 11 skirtingų diagnostinių variantų 7-iuose genuose. Iš jų 4 variantai buvo nauji, neaprašyti mokslinėje literatūroje ir nepateikti duomenų bazėse. Visi nustatyti patogeniniai ir tikėtina patogeniniai variantai detalizuojami 16 lentelėje.

16 lentelė. Nustatyti diagnostiniai variantai genuose, kurių pokyčiai lėmė kitas, ne ADPIL, diagnozes.

Šeimų skaičius	Variantas	Genotipas	ACMG	GnomAD: bendroji populiacija; kontrolinė grupė	In silico analizė: CADD, GERP, SIFT, Mutation Taster, SpliceAI	Varianto identifikacinis numeris; šaltinis
PAX2 genas (NM_000278.5)						
1	c.685C>T, p.(Arg229*)	htz	P (PVS1, PP5, PM2)	–; –	37; –1,7; –; 1; 0	rs76492282; PMID: 23539225
1	c.250G>A, p.(Gly84Ser)	htz	P (PP3, PP5, PM1, PM2)	–; –	33; 5,9; 0; 1; 0	rs2133836340; PMID: 22213154
HNF1B genas (NM_000458.4)						
1	c.478dup, p.(Met160Asnfs*62)	htz	TP (PVS1, PM2)	–; –	–; –; –; –; 0,01	Naujas
1	arr[GRCh38] 17q12(36409857_37902763)×1)	htz	–	–	–	PMID: 26160100
NPHP1 genas (NM_001128178.3)						
2	Viso geno delecija	hmz	–	–	–	PMID: 8852662
1	Viso geno delecija	htz	–	–	–	Naujas
	c.1471C>T, p.(Gln491*)	htz	TP (PVS1, PM2)	6,197e-7	40; 6,1; –; 1; 0	
TSC2 genas (NM_000548.5)						
1	c.4857C>G, p.(Phe1619Leu)	htz	TP (PP3, PM1, PM5, PM2)	–; –	23; –1,3; 0,003; –; 0	ClinVar

16 lentelės tęsinys

Šeimų skaičius	Variantas	Genotipas	ACMG	GnomAD: bendroji populiacija; kontrolinė grupė	<i>In silico</i> analizė: CADD, GERP, SIFT, <i>Mutation Taster</i> , <i>SpliceAI</i>	Varianto identifikacinis numeris; šaltinis
<i>COL4A5</i> genas (NM_033380.3)						
3	c.1871G>A, p.(Gly624Asp)	hmi	P (PP5, PM5, PM1)	0,00004629; 0,00008996	25; 5,1; 0,021; 1; 0,05	rs104886142; PMID: 17396119
<i>COL4A1</i> genas (NM_001845.6)						
1	c.413del, p.(Pro138Leufs*18)	htz	TP (PVS1, PM2)	–; –	–; –; –; 1; 0,05	Naujas
<i>PKHD1</i> genas (NM_138694.4)						
1	c.7372G>A, p.(Gly2458Arg)	htz	TP (PM2, PP3)	0,000002484; –	26; 5,8; 0; 0,998; 0,04	Naujas
	c.8518C>T, p.(Arg2840Cys)	htz	P (PP5, PM5, PM1, PM2, BP4)	0,00003957; –	26; 4,8; 0,06; –; 0	rs200432861; PMID: 15805161

Paiškinimai: Genotipas: hmi – hemizigotinis, hmz – homozigotinis, ACMG – genomo variantų patogeniškumo vertinimo kriterijai (angl. *American College of Medical Genetics and Genomics*); P – patogeninis; TP – tikėtina patogeninis; *GnomAD* – didelės apimties tarptautinė genomo ir egzomo sekoskaitos duomenų bazė (angl. *Genome Aggregation Database*).

In silico analizė: CADD (<http://cadd.gs.washington.edu/>), GERP (genominės evoliucijos greičio profiliavimo rezultatas, kuo didesnis įvertis, tuo konservatyvesnė sritis), SIFT (<http://sift.jcv.i.org>), *Mutation Taster* (<https://www.mutationtaster.org/>) ir *SpliceAI* (<https://spliceailookup.broadinstitute.org/>) programos.

Šaltinis: PMID – straipsnio identifikacinis numeris PubMed duomenų bazėje (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), *ClinVar* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>).

4.5.1. Su *PAX2* genu susijusios ligos genotipų ir fenotipų charakterizavimas

Pacientui nuo 11 metų diagnozuota abipusė multicistinė inkstų displazija. Tuo metu nustatyta kreatinino koncentracija buvo 90 $\mu\text{mol/l}$. Sulaukusiam 27 metų pacientui diagnozuota lėtinė inkstų liga, G3a stadija (aGFG 46 ml/min/1,73m², kreatininas 174 $\mu\text{mol/l}$, šlapalas 13,5 mmol/l, šlapimo rūgštis 398 $\mu\text{mol/l}$), pasireiškė proteinurija (1 g/l) ir gliukozurija (iki 56 mmol/l). Inkstų ultragarsinis ir kompiuterinės tomografijos tyrimai parodė abiejų inkstų daugybinius cistinius pakitimus (įvardytus kaip multicistinė inkstų displazija ar policistiniai inkstai), parenchimos storio sumažėjimą bei nelygų kontūrą. Genealogijoje – senelė iš tėvo pusės sirgo inkstų liga (mirė 28 metų). Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *PAX2* geno patogeninio varianto c.685C>T, p.(Arg229*) heterozigotinis genotipas (dar žinomas kaip c.754C>T, p.(Arg252*) kitame transkripte). Šis *nonsense* tipo variantas, esantis 6-ame egzone, lemia koduojamo baltymo sutrumpėjimą. Žinant apie galimą akių pažeidimą esant *PAX2* geno pokyčiams, pacientui rekomenduota atlikti oftalmologinį tyrimą, kurio metu nustatyta abipusė regos nervo displazija, tačiau regėjimo funkcija išliko nepažeista.

Antroje šeimoje 6 metų pacientei nuo gimimo kliniškai diagnozuota abipusė inkstų hipoplazija, o nuo 2 mėn. amžiaus – arterinė hipertenzija, sutrikusi inkstų funkcija (aGFG 55,7 ml/min/1,73m², kreatininas 79 $\mu\text{mol/l}$, šlapalas 12,4 mmol/l, šlapimo rūgštis 371 $\mu\text{mol/l}$). Inkstų ultragarsiniame tyrime aprašyti lėtinės inkstų ligos požymiai, mikrokalcinatai ir smulkios parenchiminės cistos iki 2 mm. Remiantis genealogijos duomenimis, nustatytas autosominis dominantinis paveldėjimo būdas. Jaunesnei seseriai taip pat nustatyta abipusė inkstų hipoplazija. Jų 36 metų tėvas serga lėtine inkstų liga, G3b stadija (aGFG 30 ml/min/1,73m², kreatininas 233 $\mu\text{mol/l}$, šlapalas 20 mmol/l, šlapimo rūgštis 683 $\mu\text{mol/l}$). Pacientui nuo 20 metų yra proteinurija (1 g/l), padidėjęs arterinis kraujospūdis. Atliktos dvi inksto biopsijos, histologiškai diagnozuota židininė segmentinė glomerulosklerozė. Oftalmologinio tyrimo metu nustatytos optinio disko duobutės. Atlikus genų rinkinio NKS tyrimą bei segregacijos analizę šeimoje, dukterims ir tėvui buvo nustatytas *PAX2* geno patogeninio varianto c.250G>A, p.(Gly84Ser) heterozigotinis genotipas. Šis *missense* tipo variantas, esantis 3-iaame egzone, lemia aminorūgšties glicino pakaitą į seriną baltymo 84-oje pozicijoje.

Pacientų požymių apibendrinimas ir palyginimas su literatūroje aprašytais atvejais pateikiamas 17 lentelėje.

17 lentelė. Šio tyrimo pacientų ir anksčiau aprašytų pacientų, turinčių tuos pačius *PAX2* geno variantus, apibendrinimas.

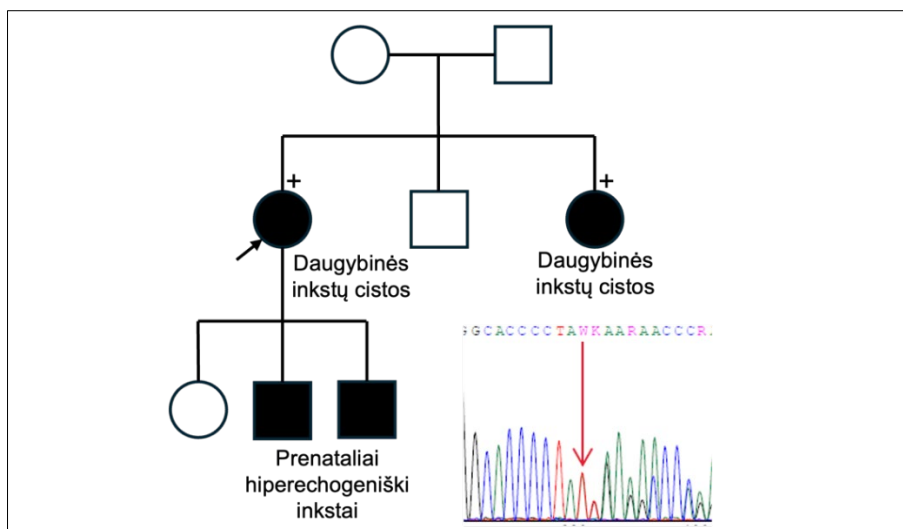
	Yang et al. (89)	Madariaga et al. (126)	1 šeima	Bower et al. (125)	2 šeima, duklė	2 šeima, tėvas
Lytis	Mot.	Vyr.	Vyr.	–	Mot.	Vyr.
Pasireiškimo amžius	2,8 m.	Prenataliai	11 m.	5,5 m.	Gimus	20 m.
Inkstų vaizdiniai tyrimai	–	Abipus hiperechoge-niški inkstai	Multicistiniai displastiniai / policistiniai inkstai	–	LIL požymiai, mikrokalcinatai ir paprastos cistos	Padidėjęs parenchimos echogeniškumas
Histologija	–	Abipusė hipoplazija su žievinėmis mikrocistomis	–	–	–	ŽSGS
Klinikinė diagnozė	Abipusė inkstų hipodisplazija	–	Abipusė MDIL	–	Abipusė inkstų hipoplazija	ŽSGS
Inkstų funkcija	LIL 5 st. 6 m. amžiaus	–	LIL 3 st. 27 m. amžiaus	–	LIL 3 st. 6 m. amžiaus	LIL 3 st. 36 m. amžiaus
Akys	Intermituojantis žvairumas	Židininė tinklainės displazija	Abipusė RN displazija	Abipusė RN koloboma; padidėjęs regos nervas su duobutėmis; fotofobija	Norma	RN disko duobutės
<i>PAX2</i> geno variantas	c.685C>T, p.Arg229*	c.754C>T, p.Arg252*	c.685C>T, p.Arg229*	c.250G>A, p.(Gly84Ser)	c.250G>A, p.(Gly84Ser)	c.250G>A, p.(Gly84Ser)
Varianto tipas	<i>Nonsense</i>	<i>Nonsense</i>	<i>Nonsense</i>	<i>Nonsense</i>	<i>Nonsense</i>	<i>Nonsense</i>
Genotipas	Htz	Htz	Htz	Htz	Htz	Htz

Paaikšninimai: Htz – heterozigotinis; LIL – lėtinė inkstų liga; MDIL – multicistinė displastinė inkstų liga; RN – regos nervas; ŽSGS – židininė segmentinė glomerulosklerozė.

4.5.2. Su *HNF1B* genu susijusios ligos genotipų ir fenotipų charakterizavimas

43 metų pacientei inkstų cistos nustatytos nuo 23 metų. Pati pacientė skundžiasi dažnais raumenų mėšlungiais, savarankiškai atliekamuose tyrimuose stebi hipomagnezemiją, nežymų inkstų funkcijos sumažėjimą (aGFG 66 ml/min/1,73m², kreatininas 92 μmol/l, šlapimo rūgštis 402 μmol/l). Inkstų ultragarsiniame tyrime matomos inkstų cistos, sumažėjęs parenchimos echogeniškumas, o inkstų dydis normalus. Nėštumo metu buvo pasireiškusi proteinurija, o dviejų nėštumų metu vaisių inkstai buvo hiperechogeniški (žr. genealogiją 29 pav.). Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *HNF1B* geno tikėtina patogeninio varianto c.478dup, p.(Met160Asnfs*62) heterozigotinis genotipas. Šis variantas, esantis geno 2-ame egzone, lemia skaitymo rėmelio poslinkį. Literatūroje nėra aprašytas.

Segregacijos analizei atvyko pacientės 33 metų sesuo, kuriai prieš metus atliktu pilvo magnetinio rezonanso tomografijos tyrimu nustatytos abipusės daugybinės inkstų cistos ir kasos parenchiminiai pokyčiai, vertinti kaip anatomicinis variantas ar nulemti kasos atrofijos dėl persirgto pankreatito. Tačiau pacientė nebuvo sirgusi pankreatitu, kitomis lėtinėmis ligomis taip pat nesirgo. Sangerio sekoskaitos tyrimu nustatytas šeiminis *HNF1B* geno variantas. Probandės vaikai tyrimo laikotarpiu segregacijos analizei neatvyko.



29 pav. Genealogija ir sekvenograma. Juoda spalva pažymėti asmenys, turintys inkstų ligos požymių; rodyklė nurodo probandę; + ženklu pažymėti asmenys, kuriems nustatytas *HNF1B* geno variantas c.478dup, nurodytas sekvenogramoje.

43 metų pacientei daugybinės inkstų cistos ir kalcinatai pirmą kartą nustatyti sulaukusiai 22 metų, kai ji gydyta stacionare dėl šlapimo takų infekcijos. 43 metų pacientei atliktame inkstų ultragarsiniame tyrime – kairysis inkstas 128 x 57 mm dydžio, parenchimoje daugybinės cistos iki 20 mm, kalcinatai, akmenys iki 2–3 mm dydžio; dešinysis inkstas 110 x 42 mm, parenchimoje daugybinės cistos apie 10–25 mm dydžio. Atliekant pilvo kompiuterinės tomografijos tyrimą, kituose vidaus organuose pokyčių neaptikta. Inkstų funkcija nesutrikusi (aGFG 106 ml/min/1,73m², kreatininas 62 µmol/l), kitų lėtinių ligų nenustatyta. Šeimoje vienam pacientės sūnui po gimimo buvo nustatyta cistinė nefropatija, gimė neišnešiotas, vėlavo psichomotorinė raida. Remiantis NKS duomenimis, įtarta heterozigotinė viso *HNF1B* geno delecija, todėl papildomai atliktas VNP lyginamosios genomo hibridizacijos tyrimas, kuriuo nustatyta 1,484 Mb dydžio 17-os chromosomos q12 genomo srities delecija, apimanti su ligomis siejamus *ACACA*, *HNF1B*, *PIGW*, *ZNHIT3* genus ir patenkanti į inkstų cistų ir cukrinio diabeto sindromo sritį (angl. *renal cysts and diabetes*).

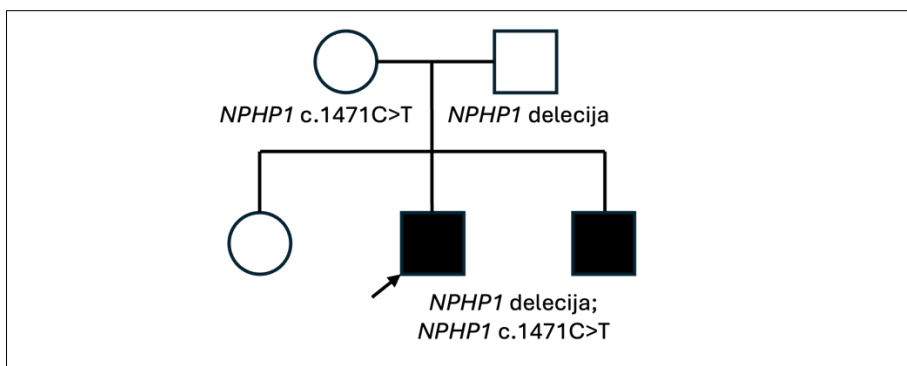
4.5.3. Su nefronoftize susijusių ciliopatijų genotipų ir fenotipų charakterizavimas

25 metų pacientė siūsta genetinei konsultacijai dėl galimos paveldimos trombinės angiopatijos ar kitos genetinės inkstų ligos. Kai šiai pacientei buvo 6 metai, profilaktinio patikrinimo metu jai nustatytas padidėjęs arterinis kraujospūdis ir diagnozuota lėtinė inkstų liga. Atlikus inksto biopsiją, histologiškai nustatytas tubulointerstininis nefritas; inkstų ultragarsinio tyrimo išvada – daugybinės inkstų cistos (policistozės požymiai). Nuo 7 metų pradėta pakaitinė inkstų terapija hemodializėmis ir atlikta inksto transplantacija. Pacientei iš viso atliktos keturios transplantacijos (kai buvo 7, 8, 11 ir 20 metų), tačiau įvykus kraujagyslių trombozėms, transplantatai pašalinti. Kituose pilvo organuose ultragarsiniu tyrimu pakitimų nenustatyta, širdies ultragarsiniu tyrimu aptikta saiki kairiojo skilvelio hipertrofija. Pacientei nuo vaikystės pasireiškė lengvo laipsnio trumparegystė. Šeimos istorija neigiamą. Remiantis NKS duomenimis, įtarta *NPHP1* geno homozigotinio genotipo delecija, kuri patvirtinta MLPA metodu.

21 metų pacientui nuo gimimo nustatyta policistinė inkstų degeneracija. Inkstų funkcijos nepakankamumas progresavo ir jam, kai buvo 11 metų, atlikta inksto transplantacija. Sulaukusiam 18 metų oftalmologinio ištirimo metu nustatyta *fovea hypoplasia*, įtartas Senoro ir Løken sindromas. Remiantis genealogijos duomenimis, šeimoje įtartas autosominis recesyvusis

paveldėjimo būdas – paciento tėvai sveiki, o jaunesniam broliui nuo 5 metų nustatytas regėjimo sutrikimas (sutrikęs spalvinis matymas, fotofobija), nuo 17 metų stebėtas gydytojo nefrologo diagnozavus jaunatvinę nefronoftizę, o oftalmologinio ištirimo metu nustatyta tinklainės distrofija (žr. 30 pav.). Naudojantis NKS duomenimis, nustatytas *NPHP1* geno tikėtina patogeninio varianto c.1471C>T, p.(Gln491*) heterozigotinis genotipas ir, atliekant segregacijos analizę šeimoje, įtarta *NPHP1* geno heterozigotinio genotipo delecija, kuri patvirtinta MLPA metodu.

Variantas c.1471C>T, p.(Gln491*) literatūroje neaprašytas, nėra pateiktas *ClinVar* duomenų bazėje. Šis geno 16-ame egzone esantis *nonsense* tipo variantas lemia priešlaikinio baigmės kodono susidarymą ir koduojamo baltymo sutrumpėjimą. *GnomAD* projekte nustatytas varianto dažnis bendrojoje populiacijoje 0,000000684 (heterozigotinio genotipo). *In silico* patogeniškumo prognozavimo įrankiai numato patogeninį varianto poveikį. Atlikta segregacijos analizė patvirtino varianto reikšmę ligos vystymuisi.



30 pav. Genealogija.

Juoda spalva pažymėti asmenys, sergantys inkstų liga; rodyklė nurodo probandą.

26 metų pacientui nuo 10 metų kliniškai diagnozuota jaunatvinė nefronoftizė ir pradėtos hemodializės. Kai buvo 11 metų, jam atlikta kadaverinio inksto transplantacija. Prieš operaciją atliktame pilvo organų ultragarsiniame tyrime aprašyti difuziniai inkstų pakenkimo požymiai: dešinysis inkstas 89 x 42 mm, kairysis inkstas 78 x 4 mm dydžio, kolektorikos suspaustos, parenchimos hipoechogeniškos; kiti pilvo organai be pakitimų. Nuo 18 metų gydytas dėl sunkaus laipsnio ūminės transplantuoto inksto atmetimo reakcijos. Ultragarsiniu tyrimu įvertinti natyviniai inkstai: dešinysis 54 x 20 mm, o kairysis 52 x 22 mm dydžio, abiejų kontūrai nelygūs, neryškūs, echogeniškumas sustiprėjęs, kiekviename inkste susidarę po cistą. Nuo 23 metų atnaujintos hemodializės, 26 metų jam atlikta antra inksto

transplantacija. Pacientas taip pat serga arterine hipertenzija, jam nustatyta hipertenzinė širdies liga. Keletą metų prastėja rega, oftalmologinio ištirimo metu nustatyta trumparegystė (–2,75 ir –3,75 dioptrijos), astigmatizmas, akių dugne regos nervo diskas ribotas, plokščias, su peripapiline degeneracija. Šeimos istorija neigiama. Naudojantis NKS duomenimis, įtarta homozigotinė *NPHPI* geno delecija, kuri patvirtinta MLPA metodu.

4.5.4. Tuberozinės sklerozės komplekso genotipo ir fenotipo charakterizavimas

61 metų pacientas atsiųstas dėl daugybinių inkstų cistų. Atlikus pilvo organų ultragarsinį tyrimą, dešiniojo inksto parenchimoje nustatytos kelios cistos, kairiojo inksto parenchimoje – daugybinės smulkios cistos; atitinkamai inkstų dydis buvo 110 x 57 mm ir 111 x 50 mm, jų kontūrai lygūs. Taip pat nustatyta storosios žarnos nusileidžiančiosios dalies ir riestinės žarnos divertikuliozė; kepenys be pakitimų. Nuo 28 metų buvo diagnozuota atspari gydymui vaistais kriptogeninė epilepsija su dažnais židininiais priepuoliais. Galvos smegenų magnetinio rezonanso tomografijos tyrimu stebėti pavieniai nespecifiniai, galbūt angiopatinės kilmės smulkūs židiniai baltojoje medžiagoje. Pacientui taip pat diagnozuota įgimta aortos vožtuvo burių anomalija (dviburis aortos vožtuvas), padidėjęs arterinis kraujospūdis, kairiojo skilvelio hipertrofija. Inkstų funkcija labiau nesutrikusi (aGFG 95 ml/min/1,73m², kreatininas 74 μmol/l, šlapalas 5,6 mmol/l, šlapimo rūgštis 331 μmol/l). Šeimos istorija neigiama. Naudojantis NKS duomenimis, nustatytas *TSC2* geno tikėtina patogeninio varianto c.4857C>G, p.(Phe1619Leu) heterozigotinis genotipas.

Pacientui nustatytas variantas literatūroje neaprašytas, tačiau kartą paminėtas *ClinVar* duomenų bazėje, kurioje jį pateikusi laboratorija vertino kaip neaiškos klinikinės reikšmės. Geno 38-ame egzone esantis *missense* tipo variantas c.4857C>G lemia aminorūgšties fenilalanino pakaitą į leuciną baltymo 1619-oje pozicijoje. *GnomAD* projekto grupėse šis variantas nebuvo nustatytas. Remiantis ACMG kriterijais, šis variantas klasifikuojamas kaip tikėtina patogeninis.

4.5.5. Alporto sindromo genotipų ir fenotipų charakterizavimas

67 metų pacientui nuo 20 metų, atlikus inkstų ultragarsinį tyrimą, įtarta nepatikslinta inkstų patologija. Nuo maždaug 47 metų nustatytas padidėjęs arterinis kraujospūdis. Vėliau, kai buvo 55 metų ir 57 metų, dėl persistuojančios mikrohematurijos pacientas tirtas gydytojų urologų, jam atlikta cistoskopija ir histologiškai nustatytas lėtinis cistitas. 66 metų pacientui

atlikta toninė slenkstinė audiograma, nustatytas abipusis neurosensorinis prikurtimas, timpanosklerozė. Būdamas 67 metų pacientas sirgo G4 stadijos lėtine inkstų liga (aGFG 27 ml/min/1,73m², kreatininas 212 μmol/l, šlapalas 20,9 mmol/l, šlapimo rūgštis 426 μmol/l), bendrame šlapimo tyrime nustatyta mikrohematurija (2 mg/L) ir proteinurija (0,5 g/L). Pilvo ir dubens organų kompiuterinės tomografijos tyrime aprašytos kepenų ir inkstų cistos, tačiau kepenys nepadidėjusios, lygiu kontūru, kairysis inkstas 105 x 50 mm, dešinysis inkstas 94 x 47 mm dydžio. Šeimos istorija neigiama. Naudojantis NKS duomenimis nustatytas *COL4A5* geno patogeninio varianto c.1871G>A, p.(Gly624Asp) hemizigotinis genotipas.

62 metų pacientas atsiųstas genetinei konsultacijai dėl galbūt paveldimos inkstų ligos. Profilaktinio patikrinimo, kai jam buvo 57-eri, metu nustatyti pakitimai šlapime: proteinurija (1,5 g/l), mikrohematurija (eritrocitų 250 r/l) ir inkstų cistos. Konsultuotas gydytojo urologo ir nefrologo dėl mikrohematurijos priežasties patikslinimo. Atliktas pilvo ir dubens kompiuterinės tomografijos tyrimas, abipus inkstuose nustatytos dauginės cistos iki ~ 30 mm, kairysis inkstas 105 x 48 mm, dešinysis inkstas 111 x 46 mm dydžio; kepenyse cistų nenustatyta. Atlikta inksto biopsija, histologiškai nustatyta žymi glomerulų hipertrofija esant plonų glomerulų bazinių membranų fenotipui. Pacientas serga lėtine inkstų liga, G2 stadija (aGFG 71 ml/min/1,73m², kreatininas 98 μmol/l, šlapalas 8,5 mmol/l, šlapimo rūgštis 415 μmol/l) ir arterine hipertenzija. Šeimos istorija neigiama. Naudojantis NKS duomenimis, nustatytas *COL4A5* geno patogeninio varianto c.1871G>A, p.(Gly624Asp) hemizigotinis genotipas.

76 metų pacientas apie jam nustatytas inkstų cistas žino apie 30 metų. Tuo metu buvo tirtas dėl kraujo šlapime, kurio yra iki šiol. Tiek pat laiko serga ir arterine hipertenzija. Būdamas 76 metų pacientas sirgo lėtine inkstų liga, G4 stadija (aGFG 23 ml/min/1,73m², kreatininas 229 μmol/l, šlapalas 24,2 mmol/l, šlapalas 8,5 mmol/l, šlapimo rūgštis 415 μmol/l). Bendrame šlapimo tyrime – eritrocitai 50*10⁶/l, gliukozurija 56 mmol/l. Ultragarsiniu tyrimu nustatyti inkstų cistiniai pakitimai: dešinysis inkstas 111 x 55 mm dydžio, kontūrai lygūs, parenchimoje cistos; kairysis inkstas 110 x 62 mm dydžio, kontūrai lygūs, parenchimoje gausu cistų, didžiausia apatiniame poliuje, deformuojanti inksto kontūrą. Kepenys nepadidėjusios (131 mm), homogeniškos struktūros, lygiais kontūrais, parenchimoje matoma cistų. Taip pat pacientui nuo maždaug 35 metų sutrikusi klausa, atlikus toninę slenkstinę audiogramą, nustatytas abipusis neurosensorinis prikurtimas, vyraujant pakenkimui kairėje. Šeimoje motina turėjo cistų kepenyse, sūnui nuo

vaikystės nustatytas klausos sutrikimas. Naudojantis NKS duomenimis, nustatytas *COL4A5* geno patogeninio varianto c.1871G>A, p.(Gly624Asp) hemizigotinis genotipas.

4.5.6. HANAC sindromo genotipo ir fenotipo charakterizavimas

61 metų pacientas konsultuotas dėl įtariamos policistinės inkstų ligos. Pacientas nuo jaunystės skundžiasi dažnu šlapinimusi naktį, nuo maždaug 44 metų vartoja antihipertenzinius vaistus. Inkstų cistos jam nustatytos, kai buvo 56–57 metų. Paskutiniais biocheminiais kraujo tyrimais nustatytas lengvas inkstų funkcijos sutrikimas (aGFG 61 ml/min/1,73m², kreatininas 111 μmol/l, šlapalas 5,9 mmol/l, šlapimo rūgštis 371 μmol/l), bendru šlapimo tyrimu nustatyta eritrocitų (5–10 ery/μl). Inkstų ultragarsiniame tyrime – inkstų policistozės vaizdas, kairiojo inksto dydis 151 x 62 mm, o dešiniojo 148 x 58 mm. Šeimoje asmenų, kuriems būtų inkstų cistų ar kurie sirgtų kitomis inkstų ligomis, nežinoma. Naudojantis NKS duomenimis, nustatytas *COL4A1* geno tikėtina patogeninio varianto c.413del, p.(Pro138Leufs*18) heterozigotinis genotipas. Šis literatūroje neaprašytas variantas, esantis geno 7-ame egzone, lemia skaitymo rėmelio poslinkį ir koduojamo baltymo funkcijos praradimą. Atsižvelgiant į genetinio tyrimo rezultatus, pagal rekomendacijas pacientui atliktas oftalmologinis ištyrimas – nustatyta, jog akių dugne arterijos ir venos žymiai pavingiuotos. Atliktas galvos smegenų magnetinio rezonanso tomografijos tyrimas: nustatyti kraujagyslinės leukoencefalopatijos požymiai; dešinėje *ncl. Caudatus* srityje galimi keli lėtiniai lakūniniai išeminiai židiniai; keli smulkūs mikrohemoraginiai depozitai tilte, smegenėlėse, pailgosiose smegenyse, pamato branduolių srityse.

4.5.7. Autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinės inkstų ligos genotipo ir fenotipo charakterizavimas

1 mėn. 15 d. amžiaus mergaitė yra pirmas vaikas šeimoje, gimusi 49 gestacijos savaitę, natūraliais takais. Po gimimo būklė buvo sunki (pagal Apgar skalę 6–7 balai), reanimuota, iš trachėjos išsiurbtas mekonijus. Atlikus galvos magnetinio rezonanso tyrimą, nustatyta intraparenchiminė kraujosruva kairėje pakaušinėje skiltyje. 1 mėn. amžiaus atliktas inkstų ultragarsinis tyrimas, kuriuo aptikta, kad kiek prasiplėtusios abiejų inkstų geldelės, yra viena įgimta kairiojo inksto cista. Po savaitės konsultuota gydytojo vaikų nefrologo, vidaus organų ultragarsiniu tyrimu nustatytos gausios inkstų cistos (autosominio recesyviojo tipo) daugiau jų parenchimoje, bet yra ir žievinėje dalyje, dauguma iki 0,5 mm dydžio, kai kurios iki 11,5 mm dydžio. Kepenys

nepadidėjusios, audinys tolygus, kontūras lygus, parenchimoje pavienės smulkios cistos, o intrahepatiniai latakai vietomis prasiplėtę iki 1,4 mm. Inkstų funkcija normali, arterinis kraujospūdis nepadidėjęs. Šeimos istorija neigiama. Naudojantis NKS duomenimis, nustatytas *PKHD1* geno patogeninio varianto c.8518C>T, p.(Arg2840Cys) ir tikėtina patogeninio varianto c.7372G>A, p.(Gly2458Arg) sudėtinis heterozigotinis genotipas. Nustatytų variantų *trans* padėtis patvirtinta atlikus segregacijos analizę šeimoje.

Pirmasis variantas ne kartą aprašytas literatūroje (PMID: 15805161, 16133180, 30507656), o variantas c.7372G>A literatūroje neaprašytas, nepaminėtas *ClinVar* duomenų bazėje. Šis *missense* tipo variantas, esantis geno 47-ame egzone, lemia aminorūgšties glicino pakaitą į arginą baltymo 2458-oje pozicijoje. *GnomAD* projekte bendrojoje populiacijoje nustatytas varianto heterozigotinio genotipo dažnis 0,000002484, homozigotinis genotipas nebuvo nustatytas. *In silico* patogeniškumo prognozavimo įrankių įvertimai numato patogeninį šio varianto poveikį.

REZULTATŲ APTARIMAS

Cistinės inkstų ligos sudaro heterogenišką paveldimų ligų grupę. Joms būdinga netolygiai išreikštas cistų fenotipas, įvairūs ekstrarenaliniai požymiai, o ligų priežastis lemia įvairūs genų variantai. Šio tyrimo kohortoje, į kurią buvo įtraukti ne vien pacientai, kuriems nustatytos aiškos klinikinės diagnozės, bet ir asmenys, kurių inkstų cistų fenotipai nespecifiniai, daugumai jų buvo nustatyta genetinė ligos priežastis. Gali būti, kad tai lėmė tinkami atrankos kriterijai ir gerai atpažįstami dažniausi inkstų cistų fenotipai, ypač esant teigiamai šeimos istorijai. Bendras diagnostinis tikslumas šioje kohortoje siekė 68,63 proc. visoms tirtoms šeimoms ir 82,69 proc. šeimų, kuriose buvo kliniškai nustatyta ADPIL. Pacientų, kuriems kliniškai nustatyta ADPIL ir kuriems nustatyta abipusė policistinė inkstų liga, bet jų šeimos istorijos nėra teigiama, grupėje diagnostinis efektyvumas siekė 73,68 proc. Aukšti diagnostiniai rodikliai įvairiose cistinių inkstų ligų kohortose pasiekti ir kituose tyrimuose. Bullich ir kt. atliktame tyrime ligą lemiantys genetiniai variantai buvo identifikuoti 78 proc. pacientų, kuriems įtarta paveldima cistinė inkstų liga. Įdomu, kad tikslinių genų NKS tyrimas leido patvirtinti klinikinę diagnozę 62 proc. atvejų, 14 proc. pacientų nustatyti naują diagnozę, o 2 proc. – pakoreguoti anksčiau nustatytą klinikinę diagnozę (10). Šiame tyrime klinikinę diagnozę patvirtinta 58,8 proc. atvejų, nauja diagnozė nustatyta 8,82 proc. atvejų, o 0,98 proc. pagal klinikinius požymius įtarta diagnozė pasikeitė. Kitame tyrime molekulinė diagnozė nustatyta 83 proc. šeimų, kuriose kliniškai įtarta cistinė inkstų liga (5). Taivano ADPIL kohortoje ligą lemiantys variantai buvo nustatyti 68,9 proc. pacientų ir apėmė *PKD1*, *PKD2*, *PKHD1*, *GANAB* ir *ALG8* (127). Šiame tyrime ADPIL grupėje nebuvo nustatyta *PKHD1* ir *ALG8* genų variantų, tačiau vienam pacientui identifikuotas *GANAB* geno variantas.

Prieš daugiau nei dešimtmetį Gee ir kt. įrodė, kad viso egzomo sekoskaita gali padėti identifikuoti cistinių inkstų ligų fenokopijas, kai klinikiniais metodais, įskaitant inkstų ultragarsinį ar net histologinius tyrimus, nepavyksta nustatyti tikslios diagnozės (128). Kaip nefronoftizės fenokopijas lemiančius pavyzdžius jie identifikavo *SLC4A1* ir *AGXT* genų variantus. Nors šiame tyrime neatlikta viso egzomo analizė, tačiau genų rinkinys apėmė visus genus, kurių variantai nustatyti Gee ir kt. tyrime. Daugybinės abipusės inkstų cistos – neretai gausios ir kliniškai imituojančios ADPIL – ne kartą aprašytos suaugusiems pacientams, sergantiems Alporto sindromu dėl patogeninių variantų *COL4A3*–5 genuose (91–93). Šiame tyrime trims vyresnio amžiaus pacientams, sergantiems Alporto sindromu, pasireiškė daugybinės inkstų cistos, o vienam pacientui nustatytas *COL4A1* geno variantas, kliniškai

imitavęs policistinę inkstų ligą. Tokie atvejai yra aprašyti ir kitų autorių, pabrėžiant, kad tikslūs genominiai tyrimai yra būtini siekiant išvengti klaidingų diagnozių pacientams, kuriems nustatomos daugybinės inkstų cistos (25, 92, 129).

Tyrime penkiems pacientams buvo nustatyti struktūriniai genomo variantai. Tokie variantai, apimantys didelius DNR pokyčius, dažnai lemia genų funkcijos praradimą, todėl juos nustatyti yra svarbu aiškinantis paveldimų inkstų ligų genetines priežastis. Nustatyti struktūriniai genomo variantai sudarė nedidelę, tačiau kliniškai reikšmingą visų genetinių pokyčių, nustatytų tiriamųjų grupėje, dalį. Tai rodo, kad, nors daugumą genetinių priežasčių sudaro taškiniai variantai (pvz., *nonsense*, *missense*, skaitymo rėmelio poslinkį lemiantys variantai), struktūriniai pokyčiai taip pat prisideda prie inkstų ligų genetinio heterogeniškumo.

PKDI gene daug egzonų apimantys pokyčiai aprašyti kaip viena iš retesnių ADPIL priežasčių, aptinkama 1,6–7,1 proc. pacientų (130). Šiame tyrime nustatyta viena *PKDI* geno 31–34 egzonų delecija lėmė 1,85 proc. ADPIL priežasčių bei parodė, kad ir Lietuvoje tokio tipo struktūriniai variantai egzistuoja. Tačiau vienam probandui įtarta *PKDI* geno 1 egzono duplikacija nebuvo patvirtinta alternatyviu metodu. Tai rodo, kad kai kurie struktūriniai pokyčiai, aptikti sekoskaitos metodais, gali būti klaidingai teigiami, o tai pabrėžia papildomų metodų svarbą, ypač vertinant *PKDI* geno struktūrinius variantus. Kitus genus apimantys struktūriniai variantai buvo patvirtinti visais atvejais ir klaidingai teigiamų rezultatų NKS metodu nebuvo gauta. *PKDI* geno sekoskaita yra sudėtinga dėl pirmųjų 33 egzonų homologijos su šešiais pseudogenais, kurių sekų panašumas siekia 97,7 proc. (131). Be to, sudėtinga sukurti trumpus oligonukleotidinius pradmenis, kurie nesijungtų prie *PKDI* pseudogenų (132). Ilgą laiką patikimiausias metodas buvo ilgų fragmentų polimerazės grandininė reakcija ir Sangerio sekoskaita. Tačiau, nors ir tikslus, šis metodas reikalauja daug laboratorijos darbo, jautrus pradmenų jungimosi vietų polimorfizmams ir nėra ekonomiškai plačiai diagnostikai (133). Naujesne alternatyva tapo viso genomo sekoskaita. Mallawaarachchi ir kt. pademonstravo, jog standartinė trumpų fragmentų viso genomo sekoskaita užtikrina tolygų *PKDI* geno padengimą nepaisant pseudogenų ir sudaro galimybę vienu tyrimu aptikti vieno nukleotido variantus, indelius bei kopijų skaičiaus pokyčius. Atliktame tyrime tai leido nustatyti molekulinę diagnozę 86 proc. ADPIL pacientų kohortoje, nors kai kurie GC turtingi regionai vis dar buvo nevisiškai padengti (134). Ateityje nauju diagnostikos standartu gali tapti ilgų fragmentų sekoskaita, kuri išspręstų pseudogenų keliamas problemas ir tyrimuose jau parodė didesnę diagnostinį efektyvumą, palyginti su kitais taikytais metodais (135).

Tiriamųjų, kuriems inkstų cistų fenotipas yra specifinis ir nespecifinis, palyginimas parodė, jog nustatytos molekulinės diagnozės grupėse skyrėsi, tačiau abiejose grupėse buvo nustatyta ADPIL ir NPHP-SC atvejų (žr. 31 pav.).

Klinikinis įtarimas		Molekulinė diagnozė		
ADPIL (n = 52)	82,69 proc.	ADPIL- <i>PKD1</i> (n = 34)	ADPIL- <i>PKD2</i> (n = 8)	ADPIL- <i>GANAB</i> (n = 1)
PIL (n = 24)	54,17 proc.	ADPIL- <i>PKD1</i> (n = 10)	ADPIL- <i>PKD2</i> (n = 2)	HANAC s. (n = 1)
Vienpusė PIL (n = 3)	33,33 proc.	ADPIL- <i>PKD1</i> (n = 1)		
NPHP (n = 3)	66,67 proc.	NPHP-SC (n = 2)		
MDIL (n = 1)	100 proc.	<i>PAX2</i> -SL (n = 1)		
ARPIL (n = 1)	100 proc.	ARPIL (n = 1)		
Nespecifinis (n = 18)	50,00 proc.	Alporto s. (n = 3)	<i>HNF1B</i> -SL (n = 2)	<i>PAX2</i> -SL (n = 1)
		ADPIL- <i>PKD1</i> (n = 1)	NPHP-SC (n = 1)	TSK (n = 1)

31 pav. Pradinis klinikinio įtarimo ir nustatytų molekulinį diagnozių pasiskirstymas.

Paaškinimai: ADPIL – autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga; ARPIL – autosominio recesyviojo paveldėjimo policistinė inkstų liga; HANAC – paveldima angiopatija, nefropatija, aneurizmos ir raumenų mėšlungis (angl. *hereditary angiopathy-nephropathy-aneurysms-muscle cramps*); *HNF1B*-SL – su *HNF1B* genu susijusi liga; MDIL – multicistinė displastinė inkstų liga; NPHP – nefronoftizė; NPHP-SC – su nefronoftize susijusi ciliopatija; *PAX2*-SL – su *PAX2* genu susijusi liga; PIL – policistinė inkstų liga; s. – sindromas; TSK – tuberozinės sklerozės kompleksas.

Vertinant šių grupių klinikinius požymius pastebėta, kad, nors pagrindiniai inkstų funkcijos rodikliai tarp grupių nesiskyrė, 1-os grupės probandoms, kuriems nustatytas specifinis inkstų cistų fenotipas, buvo būdingi didesni inkstai ir dažnesnis kepenų cistų ar policistozės pasireiškimas. Tai galima

paaikškinti tuo, kad didelę 1-os grupės dalį sudarė ADPIL, kuriai būdingi minėti požymiai.

Analizuojant abipusės policistinės inkstų ligos požymių turinčių tiriamųjų grupę, nustatyta, kad tiriamųjų, kuriems patvirtinta genetinė ADPIL diagnozė, šeimos istorija dažniau buvo teigiama, taip pat šių tiriamųjų inkstai buvo didesni, be to, jiems dažniau nustatytos kepenų cistos ar policistozė. Tai leidžia manyti, jog tiriamųjų grupėje, kurioje nenustatyta ADPIL diagnozė, galimas atipinis ligos pasireiškimas dėl kitų, dar nežinomų genetinių priežasčių arba turimi tyrimo metodai vis dar riboja galimybes nustatyti visas priežastis žinomuose genuose.

Nors ADPIL gerai žinoma liga, tačiau tirtų šeimų pavyzdys parodo jos pasireiškimo įvairovę – nuo izoliuoto atvejo šeimoje, kai inkstų funkcija stabili, iki daug sergančių asmenų šeimose ir sunkiai pasireiškiančių ekstrarenalinių požymių. Dauguma pacientų, sergančių policistine kepenų liga, yra besimptomiai, tačiau apie 3 proc. kepenų cistų augimas ir ryški hepatomegalija sukelia sunkių simptomų (136). Ši reta komplikacija pasireiškė ir vienai šio tyrimo pacientei, kuriai atlikta kepenų transplantacija. Kitas rečiau tiriamas ir nustatomas požymis – aortos aneurizma, dėl kurios vienai pacientei taikytas chirurginis gydymas jauname amžiuje. Sung ir kt. tyrime nustatyta, kad aortos dilatacijos dažnis ADPIL pacientų populiacijoje 1 proc., o iš jų net 58 proc. pasireiškė ūmi aortos disekacija. Taip pat nustatyta, kad ADPIL pacientams aortos aneurizmos ir disekacijos rizika yra 5,49 karto didesnė nei ADPIL nesergantiems pacientams, o sergant arterine hipertenzija, ši rizika padidėja net iki 46,69 karto (53). 2022 m. atliktos metaanalizės duomenimis, dėl galimo tokių tyrimų šališkumo rizikos rezultatai turėtų būti vertinami atsargiai, tačiau siūloma šią asociaciją svarstyti klinikinėje praktikoje (137). Vis dėlto tik maža dalis mūsų tyrimo pacientų klinikinio ištyrimo metu buvo įvertinti dėl aortos aneurizmos. Gali būti, kad tai lėmė gana jaunas pacientų amžius ištyrimo metu, kai toks vertinimas neatrodė indikuotinas, taip pat, tikėtina, trūksta sisteminio ištyrimo gairių nacionaliniu lygmeniu, tai atspindi ir apskritai nevienodas pacientų klinikinis ištyrimas. Tačiau 2025 m. pasirodė pirmosios KDIGO klinikinės praktikos gairės ADPIL vertinimui, valdymui ir gydymui. Pagal jas, aortos įvertinimas rekomenduotinas, kai šeimoje yra buvę aortos aneurizmos ar disekacijos atvejų (138). Todėl galima tikėtis, kad ateityje supratimas apie šių komplikacijų riziką gerės, o pacientų klinikinis ištyrimas taps sistemingai išsamesnis.

Yra žinoma, kad ADPIL pasireiškimas iš dalies priklauso ir nuo konkrečios genetinės priežasties. Shönauer ir kt. atliktame stebėsenos tyrime nustatytas reikšmingai blogesnis inkstų išgyvenamumas *PKD1* geno variantus turinčiųjų grupėje, nei turinčiųjų *PKD2* geno variantus, kurioje pacientams galutinės stadijos inkstų funkcijos nepakankamumas išsivystė apie 20 metų vėliau. Taip pat blogesnis inkstų išgyvenamumas buvo turinčiųjų baltymą trumpinančius *PKD1* geno variantus, nei baltymo netrumpinančius (24). Panašūs skirtumai tarp *PKD1* ir *PKD2* genų variantų nustatyti ir kitame tyrime, kuriame vidutinis amžius, kai pasiekama galutinės stadijos LIL, buvo 57,5 m. *PKD1* grupėje ir 70 m. *PKD2* grupėje (139). Šiame tyrime tarp tiriamųjų, turinčių baltymą trumpinančius ir jo netrumpinančius *PKD1/PKD2* genų variantus, reikšmingų daugumos klinikinių ir biocheminių rodiklių skirtumų nenustatyta. Vis dėlto, pakoregavus pagal amžių, nustatyta, kad turinčiųjų baltymą trumpinančius variantus inkstai didesni, o tai gali rodyti ankstyvesnį inkstų cistų progresavimą esant šio tipo variantams. Tačiau nebuvo taikytas stebėsenos tyrimas, todėl palyginimas su kitų tyrėjų rezultatais nepakankamai tikslus.

Palyginus skirtumus tarp *PKD1* ir *PKD2* geno variantų, galima teigti, kad pacientai, kuriems yra *PKD1* geno patogeniniai ar tikėtina patogeniniai variantai, pasižymi ryškesniu inkstų funkcijos pablogėjimu, didesne kreatinino koncentracija ir dažnesne arterine hipertenzija, nei *PKD2* grupės pacientai. Šie rezultatai patvirtina žinomą *PKD1* geno variantų ryšį su sunkesniu ADPIL fenotipu ir greitesne ligos progresija, o *PKD2* geno variantai dažniausiai lemia lengvesnę klinikinę eigą.

Nors didžiausią dalį nustatytų diagnozių sudarė ADPIL, kitos rečiau nustatytos diagnozės taip pat papildė žinias apie cistinių inkstų ligų fenotipus ir jų genetines priežastis. Mūsų žiniomis, tyrime nustatytas *PAX2* geno baltymą trumpinantis variantas c.685C>T, p.(Arg229*) anksčiau aprašytas vaikui, kuriam buvo abipusė inkstų hipodisplazija, LIL G5 stadija ir intermituojantis žvairumas (89). O mūsų pacientui pasireiškė cistinė inkstų liga, diagnozuota vaikystėje, LIL G3a stadija suaugus ir abipusė optinio nervo displazija. Prenatalinių CAKUT atvejų serijoje variantas aprašytas vaisiui, kuriam buvo abipusiai hiperechogeniški inkstai, hipoplazija, esant žievės mikocistų, ir židininė tinklainės displazija (126). Šis variantas taip pat aprašytas vieno Kinijos centro tyrime, tačiau konkretaus asmens klinikiniai duomenys nebuvo išskirti (140). *PAX2* geno variantas c.250G>A, p.(Gly84Ser) anksčiau aprašytas vaikui, kuriam pasireiškė nistagmas ir vėliau buvo nustatytos abipusės regos nervo kolobomos su duobutėmis, tačiau kliniškai akivaizdžios inkstų ligos probandai ar variantą turintiems šeimos nariams nebuvo (125). Sutampantis požymis su mūsų paciento buvo regos

nervo disko duobutės, tačiau tirtose šeimoje dominuojantis požymis buvo inkstų liga, tiek vaikams, tiek tėvui. Nepaisant to, mūsų tyrimo rezultatai iš dalies prisideda prie Yang ir kt. prielaidos, kad *missense* variantai labiau linkę sukelti nefropatiją, nei įgimtas inkstų vystymosi anomalijas (89).

Šiuo metu žinoma daugiau nei 230 skirtingų *HNF1B* geno variantų, kurių dauguma pasiskirstę pirmuose keturiuose geno egzonuose ir apima *missense*, *nonsense*, skaitymo rėmelio poslinkio ir splaisingo variantus (86). Šiame tyrime nustatytas literatūroje neaprašytas *HNF1B* geno tikėtina patogeninis variantas c.478dup, p.(Met160Asnfs*62) taip pat patenka į pirmų egzono sritį. Inkstų cistos, prenataliai matomi hiperechogeniški inkstai, hipomagnezemija – būdingi su *HNF1B* genu susijusios ligos požymiai, kurie išryškėjo tirtose šeimose. Apie 50 proc. pacientų pasireiškia MODY (angl. *Maturity-Onset Diabetes of the Young*) diabetas, apie 30 proc. nustatoma kasos atrofija, o esant 17q12 mikrolecijai labiau tikėtini neurologiniai požymiai (83). Ištyrimo metu nė vienai iš trijų pacienčių nebuvo diagnozuotas ar įtartas cukrinis diabetas, nors vienai aptikta kasos atrofijos požymių, o 17q12 mikroleciją turinčiai pacientei neurologiniai požymiai nepasireiškė. *HNF1B* geno heterozigotinio genotipo patogeniniai variantai yra viena iš dažniausiai, iki 10–15 proc., nustatomų genetinių priežasčių, esant organų vystymosi anomalijų, ypač inkstų, prenataliniu laikotarpiu ir vaikams (10).

Su nefronoftize susijusių ciliopatijų grupėje apie 45 proc. pasireiškia izoliuota nefronoftizė, o dažniausia sindrominė forma – Senorio ir Løken sindromas, nustatomas iki 35 proc. atvejų (67, 141). Šiame tyrime su nefronoftize susijusi ciliopatija kliniškai buvo nustatyta dviejose šeimose, iš kurių vienoje įtartas Senorio ir Løken sindromas. O trečioje šeimoje nebuvo nustatyta specifinė klinikinė diagnozė. Tačiau visiems pacientams nustatyta *NPHP1* geno delecija – dviem homozigotinio genotipo, lemianti apie 20–25 proc. nefronoftizės atvejų, vienoje šeimoje heterozigotinio genotipo kartu su literatūroje neaprašytu tikėtina patogeniniu variantu c.1471C>T, p.(Gln491*). Literatūros duomenimis, bialeliniai *NPHP1* geno patogeniniai variantai lemia maždaug pusę NPHP-SC atvejų (67).

Daugybinės inkstų cistos aprašomos Alporto sindromu sergantiems pacientams, pabrėžiant, jog kartu su vėlyvu inkstų funkcijos nepakankamumu ir nesant akivaizdaus klausos sutrikimo, tiksli klinikinė diagnozė gali būti nenustatyta (142). Šiame tyrime trims pacientams buvo nustatytas tas pats *COL4A5* geno variantas c.1871G>A, p.(Gly624Asp), lemiantis su X chromosoma susijusiu dominantiniu būdu paveldimą Alporto sindromą. Tai žinomas, Centrinėje ir Rytų Europoje dominuojantis *missense* variantas, siejamas su lengva Alporto sindromo forma, lemiančia inkstų funkcijos sutrikimą sulaukus vidutinio amžiaus (143). Mūsų pacientams inkstų funkcija

ženkliau sutriko taip pat vyresniame amžiuje, vienam pacientui klausos sutrikimas nebuvo nustatytas, o nustatyta molekulinė diagnozė ir paveldėjimo būdas leido tikslingai rekomenduoti genetinį tyrimą pacientų dukterims ir jų sūnums.

COL4A1 geno patogeniniai variantai lemia daugiasistemį pažeidimą, o vienas iš apibrėžtų fenotipų – autosominiu dominantiniu būdu paveldimas HANAC sindromas, kuriam būdingi ir mūsų pacientui nustatyti požymiai, kaip antai inkstų cistos, eritrocitai šlapime, tinklainės kraujagyslių vingiuotumas, leukoencefalopatija, mikrohemoragijos galvos smegenyse (144). B. Lanktree ir kt. nustatė, jog tikėtinas *COL4A1* geno mutacijų dažnis populiacijoje – bent 1 iš 5594 (43). J. Bi ir kt. atliktame tyrime iš 702 pacientų, sergančių cistine inkstų liga, *COL4A1* geno variantas nustatytas vienam (145). Literatūroje aprašyti variantai pasiskirstę visame gene, tačiau tik nedidelė dalis nustatyta pirmuose 20 egzonų, o arčiausiai mūsų paciento varianto esantis variantas (c.443G>A) nustatytas 8-ame egzone (146).

Kai kurie paveldimo vėžio sindromai, pavyzdžiui, von Hippelio ir Lindau liga ar TSK, taip pat gali pasireikšti inkstų cistomis. Nors tyrime nebuvo inkstų navikų turinčių pacientų, tačiau vienam tiriamajam nustatyta TSK molekulinė diagnozė. Šiam pacientui klinikinė diagnozė nebuvo tiksli ar specifinė, tačiau pasireiškė daugybinės inkstų cistos ir gydymui atspari epilepsija. Nustatytas literatūroje neaprašytas tikėtina patogeninis *TSC2* geno variantas c.4857C>G, p.(Phe1619Leu), o literatūroje aprašomi *TSC2* geno variantai yra įvairių tipų – *nonsense*, *missense*, skaitymo rėmelio poslinkio ar splaisingo – ir pasiskirstę visame gene (147, 148).

Pagrindiniai šio tyrimo ribotumai buvo nedidelis tiriamųjų skaičius, ypač atskirų pogrupių, todėl tarp retai nustatomų diagnozių nebuvo galimybių atlikti statistškai patikimų palyginimų. Vertinant ADPIL grupę, kai kurie reikšmingi skirtumai taip pat galėjo neišsryškėti dėl mažo *PKD2* geno variantus turinčiųjų skaičiaus, nors toks pasiskirstymas buvo tikėtinas. Rezultatai galėjo būti informatyvesni, jei būtų žinomas tikslus ligos pasireiškimo amžius; vis dėlto dėl ligos pobūdžio ir dažnai nepastebimų pradinių požymių tiksli pradžia daugeliu atvejų nežinoma. Fenotipo vertinimą apsunkino ir nevienodo išsamumo klinikiniai duomenys: pacientai atvyko atlikę nevienodus klinikinius tyrimus, todėl nedidelei daliai trūko kai kurių rodiklių tikslų verčių, o vertinant vaizdinius tyrimus neišvengiamas tam tikras subjektyvumas. Papildomų įžvalgų galėtų būti gauta atlikus platesnį ADPIL šeimų ištyrimą, tačiau, nepaisant genetinės konsultacijos metu probandoms pateiktų rekomendacijų, tyrimui atvyko tik nedidelė dalis sergančiųjų šeimos narių.

IŠVADOS

1. Heterogeniškoje cistinių inkstų ligų grupėje molekulinė diagnozė nustatyta beveik 70 proc. šeimų. Naujos kartos sekoskaitos tyrimas buvo efektyvus nustatant ne tik taškinius, bet ir struktūrinius genomo variantus. Kiek daugiau nei pusei (55,88 proc.) šeimų nustatyta autosominio dominantinio paveldėjimo policistinė inkstų liga. Dažniausiai ligą lemiantys variantai nustatyti *PKD1* gene, rečiau *PKD2* gene, taip pat nustatytas atipinis atvejis dėl *GANAB* geno ir fenokopija bei *COL4A1* geno variantų.
2. Tiriamųjų, kuriems būdingas specifinis inkstų cistų fenotipas, grupėje šeimos istorija reikšmingai dažniau buvo teigiama ir dažniau nustatyta molekulinė diagnozė (73,68 proc.), nei grupėje, kurioje tiriamiesiems būdingas nespecifinis fenotipas (47,06 proc.). Nustatytų diagnozių pasiskirstymas grupėse parodė, jog kai kuriais atvejais net ir gerai apibrėžtų ligų nepavyksta patikimai diagnozuoti vien pagal klinikinius požymius.
3. ADPIL grupėje teigiama šeimos istorija buvo svarbus veiksnys, susijęs su dažniau nustatyta molekuline diagnoze, kaip ir inkstų dydis bei kepenų cistų pasireiškimas. Su ADPIL siejamuose genuose beveik visi nustatyti variantai buvo unikalūs ir tarp šeimų nesikartojė. Nustatyti nauji tikėtina patogeniniai variantai, o beveik pusė visų variantų ($n = 29$) neaprašyti mokslinėje literatūroje.
4. *PKD1* ir *PKD2* genuose dauguma nustatytų variantų buvo trumpinantys koduojamą baltymą. Šioje grupėje stebėti didesni inkstai, palyginti su baltymo netrumpinančių variantų grupe, o tai atspindi nustatyto varianto tipo įtaką ankstesniam inkstų cistų progresavimui. Atskirai įvertinus genotipo poveikį, nustatyta, jog *PKD1* geno variantai lėmė blogesnę inkstų funkciją ir dažnesnę arterinę hipertenziją. Taigi tiksli molekulinė diagnozė leidžia iš dalies prognozuoti ligos eigą.
5. Tiriamųjų grupėje, kurioje buvo nustatyta kita, ne ADPIL, diagnozė, susidarė klinikinių variantų įvairovė: nuo įgimtų inkstų vystymosi anomalijų iki nespecifinio fenotipo daugybinių inkstų cistų. Tyrimo rezultatai patvirtino, kad cistinės inkstų ligos yra heterogeniška ligų grupė, joms būdingos įvairiame amžiuje pasireiškiančios cistos.

REKOMENDACIJOS

1. Pacientams, kuriems nustatytas specifinis cistinės inkstų ligos fenotipas, rekomenduotina atlikti genų rinkinio tyrimą:
 - jei įtariama su nefronoftize susijusi ciliopatija arba nepatikslinkta inkstų liga, dėl kurios vaikystėje pasireiškė galutinės stadijos inkstų nepakankamumas, pirmiau rekomenduotina atlikti *NPHP1* geno delecijų tyrimą. Nenustačius pokyčių arba nustatius heterozigotinio genotipo deleciją, atlikti genų rinkinio tyrimą.
2. Esant vienpusei policistinei inkstų ligai, molekulinis genetinis ištyrimas rekomenduotinas, kai yra teigiama šeimos istorija ar kitų ligos požymių, pavyzdžiui, kepenų cistų, arterijų aneurizmų.
3. Esant nespecifiniam daugybinių inkstų cistų fenotipui, molekulinis genetinis ištyrimas rekomenduotinas, kai:
 - inkstų liga pasireiškia jauname amžiuje (iki 25–30 metų);
 - teigiama šeimos istorija;
 - nustatyta hematurija ir (ar) proteinurija;
 - histologiškai nustatyta židininė segmentinė glomerulosklerozė ar suplonėjusios glomerulų bazinės membranos;
 - nustatyta daugiasistemės ligos požymių.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Torra R, Furlano M, Ortiz A, Ars E. Genetic kidney diseases as an underrecognized cause of chronic kidney disease: the key role of international registry reports. *Clin Kidney J*. 2021 Aug 1; 14(8): 1879–85.
2. Mitchison HM, Valente EM. Motile and non-motile cilia in human pathology: from function to phenotypes. *J Pathol*. 2017 Jan; 241(2): 294–309.
3. Vivante A, Hildebrandt F. Exome Sequencing Frequently Reveals the Cause of Early-Onset Chronic Kidney Disease. *Nat Rev Nephrol*. 2016 Mar; 12(3): 133–46.
4. Stokman MF, Renkema KY, Giles RH, Schaefer F, Knoers NVAM, van Eerde AM. The expanding phenotypic spectra of kidney diseases: insights from genetic studies. *Nat Rev Nephrol*. 2016 Aug; 12(8): 472–83.
5. Connaughton DM, Kennedy C, Shril S, Mann N, Murray SL, Williams PA, et al. Monogenic causes of chronic kidney disease in adults. *Kidney Int*. 2019 Apr; 95(4): 914–28.
6. Groopman EE, Marasa M, Cameron-Christie S, Petrovski S, Aggarwal VS, Milo-Rasouly H, et al. Diagnostic Utility of Exome Sequencing for Kidney Disease. *N Engl J Med*. 2019 Jan 10; 380(2): 142–51.
7. Han HY, Vangaveti V, Jose M, Ng MSY, Mallett AJ. People with genetic kidney diseases on kidney replacement therapy have different clinical outcomes compared to people with other kidney diseases. *Sci Rep*. 2024 Mar 21; 14(1): 6746.
8. Kim Y, Han S. Recent updates in therapeutic approach using tolvaptan for autosomal dominant polycystic kidney disease. *Korean J Intern Med*. 2023 May; 38(3): 322–31.
9. Sekine A, Hoshino J, Fujimaru T, Suwabe T, Mizuno H, Kawada M, et al. Genetics May Predict Effectiveness of Tolvaptan in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *Am J Nephrol*. 2020; 51(9): 745–51.
10. Bullich G, Domingo-Gallego A, Vargas I, Ruiz P, Lorente-Grandoso L, Furlano M, et al. A kidney-disease gene panel allows a comprehensive genetic diagnosis of cystic and glomerular inherited kidney diseases. *Kidney Int*. 2018 Aug; 94(2): 363–71.
11. Chebib FT, Jung Y, Heyer CM, Irazabal MV, Hogan MC, Harris PC, et al. Effect of genotype on the severity and volume progression of polycystic liver disease in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2016 June; 31(6): 952–60.

12. Rossetti S, Kubly VJ, Consugar MB, Hopp K, Roy S, Horsley SW, et al. Incompletely penetrant PKD1 alleles suggest a role for gene dosage in cyst initiation in polycystic kidney disease. *Kidney Int.* 2009 Apr; 75(8): 848–55.
13. Yan Z, Cao F, shao T, Liao B, Wang G, Tang X, et al. Epigenetics in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis.* 2025 Mar 1; 1871(3): 167652.
14. Bowden SA, Rodger EJ, Chatterjee A, Eccles MR, Stayner C. Recent Discoveries in Epigenetic Modifications of Polycystic Kidney Disease. *Int J Mol Sci.* 2021 Jan; 22(24): 13327.
15. Xu J, Xue C, Wang X, Zhang L, Mei C, Mao Z. Chromatin Methylation Abnormalities in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *Front Med [Internet].* 2022 July 5 [cited 2025 Mar 18]; 9. Available from: <https://www.frontiersin.org/undefined/journals/medicine/articles/10.3389/fmed.2022.921631/full>
16. Iliuta IA, Win AZ, Lanktree MB, Lee SH, Pourafkari M, Nasri F, et al. Atypical Polycystic Kidney Disease as defined by Imaging. *Sci Rep.* 2023 Feb 20; 13: 2952.
17. Mochizuki T, Wu G, Hayashi T, Xenophontos SL, Veldhuisen B, Saris JJ, et al. PKD2, a gene for polycystic kidney disease that encodes an integral membrane protein. *Science.* 1996 May 31; 272(5266): 1339–42.
18. Reeders ST, Breuning MH, Davies KE, Nicholls RD, Jarman AP, Higgs DR, et al. A highly polymorphic DNA marker linked to adult polycystic kidney disease on chromosome 16. *Nature.* 1985 Oct 10; 317(6037): 542–4.
19. Claus LR, Chen C, Stallworth J, Turner JL, Slaats GG, Hawks AL, et al. Certain heterozygous variants in the kinase domain of the serine/threonine kinase NEK8 can cause an autosomal dominant form of polycystic kidney disease. *Kidney Int.* 2023 Nov; 104(5): 995–1007.
20. Porath B, Gainullin VG, Cornec-Le Gall E, Dillinger EK, Heyer CM, Hopp K, et al. Mutations in GANAB, Encoding the Glucosidase II α Subunit, Cause Autosomal-Dominant Polycystic Kidney and Liver Disease. *Am J Hum Genet.* 2016 June 2; 98(6): 1193–207.
21. Cornec-Le Gall E, Olson RJ, Besse W, Heyer CM, Gainullin VG, Smith JM, et al. Monoallelic Mutations to DNAJB11 Cause Atypical Autosomal-Dominant Polycystic Kidney Disease. *Am J Hum Genet.* 2018 May 3; 102(5): 832–44.
22. Lemoine H, Raud L, Foulquier F, Sayer JA, Lambert B, Olinger E, et al. Monoallelic pathogenic ALG5 variants cause atypical polycystic kidney

- disease and interstitial fibrosis. *Am J Hum Genet.* 2022 Aug 4; 109(8): 1484–99.
23. Lanktree MB, Haghighi A, Khowaja S, Iliuta IA, Paterson A, Pei YP. Type IV Collagen Variants in Patients With Polycystic Kidneys: TH-PO377. *J Am Soc Nephrol.* 2022 Nov; 33(11S): 152.
 24. Schönauer R, Baatz S, Nemitz-Kliemchen M, Frank V, Petzold F, Sewerin S, et al. Matching clinical and genetic diagnoses in autosomal dominant polycystic kidney disease reveals novel phenocopies and potential candidate genes. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* 2020 Aug; 22(8): 1374–83.
 25. Gall ECL, Chebib FT, Madsen CD, Senum SR, Heyer CM, Lanpher BC, et al. The Value of Genetic Testing in Polycystic Kidney Diseases Illustrated by a Family With PKD2 and COL4A1 Mutations. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2018 Aug; 72(2): 302–8.
 26. Nigro E, Amicone M, D’Arco D, Sellitti G, De Marco O, Guarino M, et al. Molecular Diagnosis and Identification of Novel Pathogenic Variants in a Large Cohort of Italian Patients Affected by Polycystic Kidney Diseases. *Genes.* 2023 June 8; 14(6): 1236.
 27. Hosseinpour M, Ardalani F, Mohseni M, Beheshtian M, Arzhanghi S, Ossareh S, et al. Targeted Next Generation Sequencing Revealed Novel Variants in the PKD1 and PKD2 Genes of Iranian Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *Arch Iran Med.* 2022 Sept 1; 25(9): 600–8.
 28. Otto EA, Ramaswami G, Janssen S, Chaki M, Allen SJ, Zhou W, et al. Mutation analysis of 18 nephronophthisis associated ciliopathy disease genes using a DNA pooling and next generation sequencing strategy. *J Med Genet.* 2011 Feb; 48(2): 105–16.
 29. Renkema KY, Stokman MF, Giles RH, Knoers NVAM. Next-generation sequencing for research and diagnostics in kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* 2014 Aug; 10(8): 433–44.
 30. Al-Awqati Q, Oliver JA. Stem cells in the kidney. *Kidney Int.* 2002 Feb 1; 61(2): 387–95.
 31. Matsell DG, Hiatt MJ. 100 - Functional Development of the Kidney in Utero. In: Polin RA, Abman SH, Rowitch DH, Benitz WE, Fox WW, editors. *Fetal and Neonatal Physiology (Fifth Edition)* [Internet]. Elsevier; 2017 [cited 2025 Oct 2]. p. 965–976.e3. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323352147001001>
 32. Taguchi A, Kaku Y, Ohmori T, Sharmin S, Ogawa M, Sasaki H, et al. Redefining the In Vivo Origin of Metanephric Nephron Progenitors Enables Generation of Complex Kidney Structures from Pluripotent Stem Cells. *Cell Stem Cell.* 2014 Jan 2; 14(1): 53–67.

33. Pietilä I, Vainio SJ. Kidney development: an overview. *Nephron Exp Nephrol.* 2014; 126(2): 40.
34. Bouchard M, Souabni A, Mandler M, Neubüser A, Busslinger M. Nephric lineage specification by Pax2 and Pax8. *Genes Dev.* 2002 Nov 15; 16(22): 2958–70.
35. Guillaume R, Bressan M, Herzlinger D. Paraxial mesoderm contributes stromal cells to the developing kidney. *Dev Biol.* 2009 May 15; 329(2): 169–75.
36. Bronner-Fraser M, Fraser SE. Cell lineage analysis reveals multipotency of some avian neural crest cells. *Nature.* 1988 Sept; 335(6186): 161–4.
37. Schmidt-Ott KM, Chen X, Paragas N, Levinson RS, Mendelsohn CL, Barasch J. c-kit delineates a distinct domain of progenitors in the developing kidney. *Dev Biol.* 2006 Nov 1; 299(1): 238–49.
38. Lindström NO, Guo J, Kim AD, Tran T, Guo Q, De Sena Brandine G, et al. Conserved and Divergent Features of Mesenchymal Progenitor Cell Types within the Cortical Nephrogenic Niche of the Human and Mouse Kidney. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2018 Mar; 29(3): 806–24.
39. Morisada N, Nozu K, Iijima K. Branchio-oto-renal syndrome: Comprehensive review based on nationwide surveillance in Japan. *Pediatr Int.* 2014; 56(3): 309–14.
40. Torres M, Gómez-Pardo E, Dressler GR, Gruss P. Pax-2 controls multiple steps of urogenital development. *Dev Camb Engl.* 1995 Dec; 121(12): 4057–65.
41. Sweeney WE, Avner ED. Pathophysiology of childhood polycystic kidney diseases: new insights into disease-specific therapy. *Pediatr Res.* 2014 Jan; 75(1): 148–57.
42. Bergmann C, Guay-Woodford LM, Harris PC, Horie S, Peters DJM, Torres VE. Polycystic kidney disease. *Nat Rev Dis Primer.* 2018 Dec 6; 4(1): 1–24.
43. Lanktree MB, Haghighi A, Guiard E, Iliuta IA, Song X, Harris PC, et al. Prevalence Estimates of Polycystic Kidney and Liver Disease by Population Sequencing. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2018 Oct; 29(10): 2593–600.
44. Fick GM, Gabow PA. Hereditary and acquired cystic disease of the kidney. *Kidney Int.* 1994 Oct; 46(4): 951–64.
45. Kabaalioglu A, MacLennan GT. Cystic Diseases of the Kidney. In: Dogra VS, MacLennan GT, editors. London: Springer London; 2013 [cited 2025 Mar 4]. p. 95–119. Available from: https://link.springer.com/10.1007/978-1-84800-245-6_3

46. Waterman J. Diagnosis and evaluation of renal cysts. *Prim Care*. 2014 Dec; 41(4): 823–35.
47. Hanna C, Iliuta IA, Besse W, Mekahli D, Chebib FT. Cystic Kidney Diseases in Children and Adults: Differences and Gaps in Clinical Management. *Semin Nephrol* [Internet]. 2023 July 1 [cited 2025 Mar 13]; 43(4). Available from: [https://www.seminarsinnephrology.org/article/S0270-9295\(23\)00144-4/abstract](https://www.seminarsinnephrology.org/article/S0270-9295(23)00144-4/abstract)
48. Soliman NA. Orphan Kidney Diseases. *Nephron Clin Pract*. 2012 Aug 24; 120(4): c194–9.
49. Dam TJP van, Kennedy J, Lee R van der, Vrieze E de, Wunderlich KA, Rix S, et al. CiliaCarta: An integrated and validated compendium of ciliary genes. *PLOS ONE*. 2019 May 16; 14(5): e0216705.
50. McConnachie DJ, Stow JL, Mallett AJ. Ciliopathies and the Kidney: A Review. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2021 Mar; 77(3): 410–9.
51. Bae KT, Zhu F, Chapman AB, Torres VE, Grantham JJ, Guay-Woodford LM, et al. Magnetic resonance imaging evaluation of hepatic cysts in early autosomal-dominant polycystic kidney disease: the Consortium for Radiologic Imaging Studies of Polycystic Kidney Disease cohort. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2006 Jan; 1(1): 64–9.
52. Gibbs GF, Huston J, Qian Q, Kubly V, Harris PC, Brown RD, et al. Follow-up of intracranial aneurysms in autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int*. 2004 May 1; 65(5): 1621–7.
53. Sung PH, Yang YH, Chiang HJ, Chiang JY, Chen CJ, Liu CT, et al. Risk of aortic aneurysm and dissection in patients with autosomal-dominant polycystic kidney disease: a nationwide population-based cohort study. *Oncotarget*. 2017 Mar 17; 8(34): 57594–604.
54. Cornec-Le Gall E, Audrézet MP, Rousseau A, Hourmant M, Renaudineau E, Charasse C, et al. The PROPKD Score: A New Algorithm to Predict Renal Survival in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2016 Mar; 27(3): 942–51.
55. Senum SR, Li YSM, Benson KA, Joli G, Olinger E, Lavu S, et al. Monoallelic IFT140 pathogenic variants are an important cause of the autosomal dominant polycystic kidney-spectrum phenotype. *Am J Hum Genet*. 2022 Jan 6; 109(1): 136–56.
56. Cornec-Le Gall E, Torres VE, Harris PC. Genetic Complexity of Autosomal Dominant Polycystic Kidney and Liver Diseases. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2018 Jan; 29(1): 13–23.

57. Ma M. Cilia and polycystic kidney disease. *Semin Cell Dev Biol.* 2021 Feb; 110: 139–48.
58. Hateboer N, v Dijk MA, Bogdanova N, Coto E, Saggar-Malik AK, San Millan JL, et al. Comparison of phenotypes of polycystic kidney disease types 1 and 2. European PKD1-PKD2 Study Group. *Lancet Lond Engl.* 1999 Jan 9; 353(9147): 103–7.
59. Cornec-Le Gall E, Audrézet MP, Renaudineau E, Hourmant M, Charasse C, Michez E, et al. PKD2-Related Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: Prevalence, Clinical Presentation, Mutation Spectrum, and Prognosis. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2017 Oct; 70(4): 476–85.
60. Kataoka H, Fukuoka H, Makabe S, Yoshida R, Teraoka A, Ushio Y, et al. Prediction of Renal Prognosis in Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease Using PKD1/PKD2 Mutations. *J Clin Med.* 2020 Jan 5; 9(1): 146.
61. Bergmann C, Senderek J, Küpper F, Schneider F, Dornia C, Windelen E, et al. PKHD1 mutations in autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD). *Hum Mutat.* 2004 May; 23(5): 453–63.
62. Li H, Wang C, Che R, Zheng B, Zhou W, Huang S, et al. A Potential Therapy Using Antisense Oligonucleotides to Treat Autosomal Recessive Polycystic Kidney Disease. *J Clin Med.* 2023 Feb 10; 12(4): 1428.
63. Burgmaier K, Brinker L, Erger F, Beck BB, Benz MR, Bergmann C, et al. Refining genotype–phenotype correlations in 304 patients with autosomal recessive polycystic kidney disease and PKHD1 gene variants. *Kidney Int.* 2021 Sept 1; 100(3): 650–9.
64. Lu H, Galeano MCR, Ott E, Kaeslin G, Kausalya PJ, Kramer C, et al. Mutations in DZIP1L, which encodes a ciliary transition zone protein, cause autosomal recessive polycystic kidney disease. *Nat Genet.* 2017 July; 49(7): 1025–34.
65. Gupta S, Ozimek-Kulik JE, Phillips JK. Nephronophthisis-Pathobiology and Molecular Pathogenesis of a Rare Kidney Genetic Disease. *Genes.* 2021 Nov 5; 12(11): 1762.
66. Srivastava S, Molinari E, Raman S, Sayer JA. Many Genes—One Disease? Genetics of Nephronophthisis (NPHP) and NPHP-Associated Disorders. *Front Pediatr [Internet].* 2018 Jan 5 [cited 2025 Mar 7]; 5. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/pediatrics/articles/10.3389/fped.2017.00287/full>

67. Petzold F, Billot K, Chen X, Henry C, Filhol E, Martin Y, et al. The genetic landscape and clinical spectrum of nephronophthisis and related ciliopathies. *Kidney Int.* 2023 Aug 1; 104(2): 378–87.
68. Sakakibara N, Nozu K, Yamamura T, Horinouchi T, Nagano C, Ye MJ, et al. Comprehensive genetic analysis using next-generation sequencing for the diagnosis of nephronophthisis-related ciliopathies in the Japanese population. *J Hum Genet.* 2022 July; 67(7): 427–40.
69. Econimo L, Schaeffer C, Zeni L, Cortinovis R, Alberici F, Rampoldi L, et al. Autosomal Dominant Tubulointerstitial Kidney Disease: An Emerging Cause of Genetic CKD. *Kidney Int Rep.* 2022 Aug 29; 7(11): 2332–44.
70. Devuyst O, Olinger E, Weber S, Eckardt KU, Knoch S, Rampoldi L, et al. Autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease. *Nat Rev Dis Primer.* 2019 Sept 5; 5(1): 60.
71. Bolar NA, Golzio C, Živná M, Hayot G, Van Hemelrijk C, Schepers D, et al. Heterozygous Loss-of-Function SEC61A1 Mutations Cause Autosomal-Dominant Tubulo-Interstitial and Glomerulocystic Kidney Disease with Anemia. *Am J Hum Genet.* 2016 July 7; 99(1): 174–87.
72. Hes FJ, Höppener JW, Luijt RB van der, Lips CJ. Von Hippel-Lindau Disease. *Hered Cancer Clin Pract.* 2005 Nov 15; 3(4): 171–8.
73. Nair N, Chakraborty R, Mahajan Z, Sharma A, Sethi SK, Raina R. Renal Manifestations of Tuberous Sclerosis Complex. *J Kidney Cancer VHL.* 2020 Aug 27; 7(3): 5–19.
74. Rijal JP, Dhakal P, Giri S, Dahal KV. Tuberous sclerosis complex with autosomal dominant polycystic kidney disease: a rare duo. *BMJ Case Rep.* 2014 Dec 17; 2014: bcr2014207471.
75. Murugapoopathy V, Gupta IR. A Primer on Congenital Anomalies of the Kidneys and Urinary Tracts (CAKUT). *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 2020 May 7; 15(5): 723–31.
76. Talati AN, Webster CM, Vora NL. Prenatal genetic considerations of congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT). *Prenat Diagn.* 2019 Aug; 39(9): 679–92.
77. Capone VP, Morello W, Taroni F, Montini G. Genetics of Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract: The Current State of Play. *Int J Mol Sci.* 2017 Apr; 18(4): 796.
78. Cooper CJ, Said S, Khalillullah S, Salameh HJ, Hernandez GT. Multicystic dysplastic kidney complicated by pyelonephritis. *Am J Case Rep.* 2013; 14: 412–5.

79. Nicolaou N, Renkema KY, Bongers EMHF, Giles RH, Knoers NVAM. Genetic, environmental, and epigenetic factors involved in CAKUT. *Nat Rev Nephrol.* 2015 Dec; 11(12): 720–31.
80. Chen TJ, Song R, Janssen A, Yosypiv IV. Cytogenomic Aberrations in Isolated Multicystic Dysplastic Kidney in Children. *Pediatr Res.* 2022 Feb; 91(3): 659–64.
81. Winyard P, Chitty LS. Dysplastic kidneys. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2008 June 1; 13(3): 142–51.
82. Hwang DY, Dworschak GC, Kohl S, Saisawat P, Vivante A, Hilger AC, et al. Mutations in 12 known dominant disease-causing genes clarify many congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Kidney Int.* 2014 June; 85(6): 1429–33.
83. Gambella A, Kalantari S, Cadamuro M, Quaglia M, Delvecchio M, Fabris L, et al. The Landscape of HNF1B Deficiency: A Syndrome Not Yet Fully Explored. *Cells.* 2023 Jan 13; 12(2): 307.
84. Stenson PD, Mort M, Ball EV, Chapman M, Evans K, Azevedo L, et al. The Human Gene Mutation Database (HGMD®): optimizing its use in a clinical diagnostic or research setting. *Hum Genet.* 2020 Oct 1; 139(10): 1197–207.
85. Bockenhauer D, Jaureguierry G. HNF1B-associated clinical phenotypes: the kidney and beyond. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 2016 May; 31(5): 707–14.
86. Clissold RL, Hamilton AJ, Hattersley AT, Ellard S, Bingham C. HNF1B-associated renal and extra-renal disease-an expanding clinical spectrum. *Nat Rev Nephrol.* 2015 Feb; 11(2): 102–12.
87. Faguer S, Decramer S, Chassaing N, Bellanné-Chantelot C, Calvas P, Beaufils S, et al. Diagnosis, management, and prognosis of HNF1B nephropathy in adulthood. *Kidney Int.* 2011 Oct 1; 80(7): 768–76.
88. Fletcher J, Hu M, Berman Y, Collins F, Grigg J, McIver M, et al. Multicystic Dysplastic Kidney and Variable Phenotype in a Family with a Novel Deletion Mutation of PAX2. *J Am Soc Nephrol.* 2005 Sept; 16(9): 2754.
89. Yang X, Li Y, Fang Y, Shi H, Xiang T, Liu J, et al. Phenotypic spectrum and genetics of PAX2-related disorder in the Chinese cohort. *BMC Med Genomics.* 2021 Oct 25; 14(1): 250.
90. Forero-Delgadillo JM, Ochoa V, Duque N, Restrepo JM, Londoño H, Nastasi-Catanese JA, et al. New PAX2 Mutation Associated with Polycystic Kidney Disease: A Case Report. *Clin Med Insights Pediatr.* 2021 Mar 5; 15: 1179556521992354.

91. Amari KR, Tuazon JA. A Case of Mistaken Identity: Alport Syndrome Masquerading as Polycystic Kidney Disease: PO1282. *J Am Soc Nephrol*. 2021 Oct; 32(10S): 412.
92. Gulati A, Sevillano AM, Praga M, Gutierrez E, Alba I, Dahl NK, et al. Collagen IV Gene Mutations in Adults With Bilateral Renal Cysts and CKD. *Kidney Int Rep*. 2019 Sept 11; 5(1): 103–8.
93. Sevillano AM, Gutierrez E, Morales E, Hernandez E, Molina M, Gonzalez E, et al. Multiple kidney cysts in thin basement membrane disease with proteinuria and kidney function impairment. *Clin Kidney J*. 2014 June; 7(3): 251–6.
94. Chang YW, Hwang DY, Chen TY, Lin CC, Tseng MH, Tsai JD. Kidney Cysts in Children With Alport Syndrome: A Report of 3 Cases. *Kidney Med*. 2024 Mar 25; 6(5): 100815.
95. Pisani A, Petruzzelli Annicchiarico L, Pellegrino A, Bruzzese D, Feriozzi S, Imbriaco M, et al. Parapelvic cysts, a distinguishing feature of renal Fabry disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2018 Feb 1; 33(2): 318–23.
96. Johar L, Lee G, Martin-Rios A, Hall K, Cheng C, Lombardo D, et al. Polycystic kidney disease complicates renal pathology in a family with Fabry disease. *Mol Genet Metab Rep*. 2022 Nov 14; 33: 100934.
97. Watanabe T, Tajima T. Renal cysts and nephrocalcinosis in a patient with Bartter syndrome type III. *Pediatr Nephrol*. 2005 May 1; 20(5): 676–8.
98. Son MH, Yim HE, Yoo KH. A Novel Homozygous *CLCNKB* Mutation of Classic Bartter Syndrome Presenting with Renal Cysts in 6-year-Old Identical Twin Boys: A Case Report. *Child Kidney Dis*. 2021 June 30; 25(1): 35–9.
99. Cocchi E, Nestor JG, Gharavi AG. Clinical Genetic Screening in Adult Patients with Kidney Disease. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2020 Oct 7; 15(10): 1497–510.
100. Mallett AJ, McCarthy HJ, Ho G, Holman K, Farnsworth E, Patel C, et al. Massively parallel sequencing and targeted exomes in familial kidney disease can diagnose underlying genetic disorders. *Kidney Int*. 2017 Dec; 92(6): 1493–506.
101. Lata S, Marasa M, Li Y, Fasel DA, Groopman E, Jobanputra V, et al. Whole-Exome Sequencing in Adults With Chronic Kidney Disease A Pilot Study. *Ann Intern Med*. 2018 Jan 16; 168(2): 100–9.
102. Li S, Han X, Wang Y, Chen S, Niu J, Qian Z, et al. Chromosomal microarray analysis in fetuses with congenital anomalies of the kidney and urinary tract: A prospective cohort study and meta-analysis. *Prenat Diagn*. 2019 Feb; 39(3): 165–74.

103. Verbitsky M, Westland R, Perez A, Kiryluk K, Liu Q, Krithivasan P, et al. The copy number variation landscape of congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Nat Genet.* 2019 Jan; 51(1): 117–27.
104. Weber S, Moriniere V, Knüppel T, Charbit M, Dusek J, Ghiggeri GM, et al. Prevalence of mutations in renal developmental genes in children with renal hypodysplasia: results of the ESCAPE study. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2006 Oct; 17(10): 2864–70.
105. van der Ven AT, Connaughton DM, Ityel H, Mann N, Nakayama M, Chen J, et al. Whole-Exome Sequencing Identifies Causative Mutations in Families with Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2018 Sept; 29(9): 2348–61.
106. Dong K, Zhang C, Tian X, Coman D, Hyder F, Ma M, et al. Renal plasticity revealed through reversal of polycystic kidney disease in mice. *Nat Genet.* 2021 Dec; 53(12): 1649–63.
107. Wang K, Li M, Hakonarson H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res.* 2010 Sept; 38(16): e164.
108. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* 2015 May; 17(5): 405–24.
109. Green RC, Berg JS, Grody WW, Kalia SS, Korf BR, Martin CL, et al. ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* 2013 July; 15(7): 565–74.
110. 1000 Genomes Project Consortium, Abecasis GR, Altshuler D, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, et al. A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature.* 2010 Oct 28; 467(7319): 1061–73.
111. Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, Samocha KE, Banks E, Fennell T, et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature.* 2016 Aug 18; 536(7616): 285–91.
112. Liu X, Wu C, Li C, Boerwinkle E. dbNSFP v3.0: A One-Stop Database of Functional Predictions and Annotations for Human Nonsynonymous and Splice-Site SNVs. *Hum Mutat.* 2016 Mar; 37(3): 235–41.
113. NCBI [Internet]. [cited 2025 Nov 16]. *Homo sapiens*. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/9606/>
114. Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, Kantarci S, Kearney H, Patel A, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of

constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2020 Feb; 22(2): 245–57.

115. Kõressaar T, Lepamets M, Kaplinski L, Raime K, Andreson R, Remm M. Primer3_masker: integrating masking of template sequence with primer design software. *Bioinforma Oxf Engl*. 2018 June 1; 34(11): 1937–8.
116. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int*. 2024 Apr; 105(4S): S117–314.
117. Schönauer R, Baatz S, Nemitz-Kliemchen M, Frank V, Petzold F, Sewerin S, et al. Matching clinical and genetic diagnoses in autosomal dominant polycystic kidney disease reveals novel phenocopies and potential candidate genes. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2020 Aug; 22(8): 1374–83.
118. Chebib FT, Hogan MC, El-Zoghby ZM, Irazabal MV, Senum SR, Heyer CM, et al. Autosomal Dominant Polycystic Kidney Patients May Be Predisposed to Various Cardiomyopathies. *Kidney Int Rep*. 2017 Sept; 2(5): 913–23.
119. Rossetti S, Consugar MB, Chapman AB, Torres VE, Guay-Woodford LM, Grantham JJ, et al. Comprehensive molecular diagnostics in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2007 July; 18(7): 2143–60.
120. Hwang YH, Conklin J, Chan W, Roslin NM, Liu J, He N, et al. Refining Genotype-Phenotype Correlation in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2016 June; 27(6): 1861–8.
121. Kim H, Park HC, Ryu H, Kim H, Lee HS, Heo J, et al. Genetic Characteristics of Korean Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease by Targeted Exome Sequencing. *Sci Rep*. 2019 Nov 18; 9(1): 16952.
122. Carrera P, Calzavara S, Magistroni R, den Dunnen JT, Rigo F, Stenirri S, et al. Deciphering Variability of PKD1 and PKD2 in an Italian Cohort of 643 Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD). *Sci Rep*. 2016 Aug 8; 6: 30850.
123. Hoefele J, Mayer K, Scholz M, Klein HG. Novel PKD1 and PKD2 mutations in autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD). *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2011 July; 26(7): 2181–8.

124. Chang AR, Moore BS, Luo JZ, Sartori G, Fang B, Jacobs S, et al. Exome Sequencing of a Clinical Population for Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *JAMA*. 2022 Dec 27; 328(24): 2412–21.
125. Bower M, Salomon R, Allanson J, Antignac C, Benedicenti F, Benetti E, et al. Update of PAX2 mutations in renal coloboma syndrome and establishment of a locus-specific database. *Hum Mutat*. 2012 Mar; 33(3): 457–66.
126. Madariaga L, Morinière V, Jeanpierre C, Bouvier R, Loget P, Martinovic J, et al. Severe prenatal renal anomalies associated with mutations in HNF1B or PAX2 genes. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2013 July; 8(7): 1179–87.
127. Yu CC, Lee AF, Kohl S, Lin MY, Cheng SM, Hung CC, et al. PKD2 founder mutation is the most common mutation of polycystic kidney disease in Taiwan. *NPJ Genomic Med*. 2022 July 1; 7: 40.
128. Gee HY, Otto EA, Hurd TW, Ashraf S, Chaki M, Cluckey A, et al. Whole-exome resequencing distinguishes cystic kidney diseases from phenocopies in renal ciliopathies. *Kidney Int*. 2014 Apr; 85(4): 880–7.
129. Gulati A, Bae KT, Somlo S, Watnick T. Genomic Analysis to Avoid Misdiagnosis of Adults With Bilateral Renal Cysts. *Ann Intern Med*. 2018 July 17; 169(2): 130–1.
130. Claus LR, Snoek R, Knoers NVAM, van Eerde AM. Review of genetic testing in kidney disease patients: Diagnostic yield of single nucleotide variants and copy number variations evaluated across and within kidney phenotype groups. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2022; 190(3): 358–76.
131. Kirsch S, Pasantes J, Wolf A, Bogdanova N, Münch C, Pennekamp P, et al. Chromosomal evolution of the PKD1 gene family in primates. *BMC Evol Biol*. 2008 Sept 26; 8: 263.
132. Eisenberger T, Decker C, Hiersche M, Hamann RC, Decker E, Neuber S, et al. An Efficient and Comprehensive Strategy for Genetic Diagnostics of Polycystic Kidney Disease. *PLoS ONE*. 2015 Feb 3; 10(2): e0116680.
133. Tan YC, Michael A, Blumenfeld J, Donahue S, Parker T, Levine D, et al. A Novel Long-Range PCR Sequencing Method for Genetic Analysis of the Entire PKD1 Gene. *J Mol Diagn*. 2012 July 1; 14(4): 305–13.
134. Mallawaarachchi AC, Hort Y, Cowley MJ, McCabe MJ, Minoche A, Dinger ME, et al. Whole-genome sequencing overcomes pseudogene homology to diagnose autosomal dominant polycystic kidney disease. *Eur J Hum Genet*. 2016 Nov; 24(11): 1584–90.

135. Sun Q, Xu P, Mao A, Huang S, Li J, Chen L, et al. Targeted long-read sequencing enables higher diagnostic yield of ADPKD by accurate PKD1 genetic analysis. *Npj Genomic Med.* 2025 Mar 11; 10(1): 22.
136. Temmerman F, Missiaen L, Bammens B, Laleman W, Cassiman D, Verslype C, et al. Systematic review: the pathophysiology and management of polycystic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011; 34(7): 702–13.
137. Nunes R, Gouveia E, Melo R, Almeida AG, de Almeida E, Pinto FJ, Pedro LM, et al. Does autosomal dominant polycystic kidney disease increase the risk of aortic aneurysm or dissection: a point of view based on a systematic review and meta-analysis. *J Nephrol.* 2022 July; 35(6): 1585–93.
138. Torres VE, Ahn C, Barten TRM, Brosnahan G, Cadnapaphornchai MA, Chapman AB, et al. KDIGO 2025 clinical practice guideline for the evaluation, management, and treatment of autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD): executive summary. *Kidney Int.* 2025 Feb; 107(2): 234–54.
139. Espinosa Cabello M, Ansio Vázquez I, Espejo Portero I, Rodríguez Fuentes D, Rabasco Ruiz C, Espinosa Hernández M. The natural history of autosomal dominant polycystic kidney disease. A strategy for grouping families and mutations. *Nefrol Engl Ed.* 2023 Jan 1; 43(1): 120–5.
140. Xiong HY, Shi YQ, Zhong C, Yang Q, Zhang G, Yang H, et al. Detection of De Novo PAX2 Variants and Phenotypes in Chinese Population: A Single-Center Study. *Front Genet.* 2022; 13: 799562.
141. Stokman MF, van der Zwaag B, van de Kar NCAJ, van Haelst MM, van Eerde AM, van der Heijden JW, et al. Clinical and genetic analyses of a Dutch cohort of 40 patients with a nephronophthisis-related ciliopathy. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 2018 Oct; 33(10): 1701–12.
142. Savige J, Mack H, Thomas R, Langsford D, Pianta T. Alport Syndrome With Kidney Cysts Is Still Alport Syndrome. *Kidney Int Rep.* 2021 Nov 9; 7(2): 339–42.
143. Żurowska AM, Bielska O, Dąca-Roszak P, Jankowski M, Szczepańska M, Roszkowska-Bjanid D, et al. Mild X-linked Alport syndrome due to the *COL4A5* G624D variant originating in the Middle Ages is predominant in Central/East Europe and causes kidney failure in midlife. *Kidney Int.* 2021 June 1; 99(6): 1451–8.
144. Gasparini S, Balestrini S, Saccaro LF, Bacci G, Panichella G, Montomoli M, et al. Multiorgan manifestations of COL4A1 and COL4A2 variants and proposal for a clinical management protocol. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2024; 196(4): e32099.

145. Bi J, Guo W, Ji P, Li S, Wang P, Li Q, et al. The spectrum of diseases, genetic landscape and new mutation sites of hereditary cystic kidney disease. *Clin Kidney J.* 2025 Mar 4; 18(4): sfaf064.
146. Zagaglia S, Selch C, Nisevic JR, Mei D, Michalak Z, Hernandez-Hernandez L, et al. Neurologic phenotypes associated with COL4A1/2 mutations. *Neurology.* 2018 Nov 27; 91(22): e2078–88.
147. Hung CC, Su YN, Chien SC, Liou HH, Chen CC, Chen PC, et al. Molecular and clinical analyses of 84 patients with tuberous sclerosis complex. *BMC Med Genet.* 2006 Sept 18; 7(1): 72.
148. Rosset C, Netto CBO, Ashton-Prolla P. *TSC1* and *TSC2* gene mutations and their implications for treatment in Tuberous Sclerosis Complex: a review. *Genet Mol Biol.* 2017; 40: 69–79.

PRIEDAS

Priedas. Tikslinio genų rinkinio sąrašas.

(Appendix 1. Kidney disease gene panel.)

Nr.	Genas	OMIM	Nr.	Genas	OMIM
1	<i>ABCC6</i>	603234	206	<i>INF2</i>	610982
2	<i>ABCG2</i>	603756	207	<i>INPP5E</i>	613037
3	<i>ACE</i>	106180	208	<i>INSR</i>	147670
4	<i>ACTG2</i>	102545	209	<i>INTU</i>	610621
5	<i>ACTN4</i>	604638	210	<i>INVS</i>	243305
6	<i>ACVR2B</i>	602730	211	<i>IQCB1</i>	609237
7	<i>ADAMTS13</i>	604134	212	<i>YRDC</i>	612276
8	<i>ADAMTS9</i>	605421	213	<i>ITGA3</i>	605025
9	<i>ADCY10</i>	605205	214	<i>ITGA8</i>	604063
10	<i>AGPAT2</i>	603100	215	<i>ITGB4</i>	147557
11	<i>AGT</i>	106150	216	<i>ITSN1</i>	602442
12	<i>AGTR1</i>	106165	217	<i>ITSN2</i>	604464
13	<i>AGXT</i>	604285	218	<i>JAG1</i>	601920
14	<i>AH11</i>	608894	219	<i>KANK1</i>	607704
15	<i>ALDH1A2</i>	603687	220	<i>KANK2</i>	614610
16	<i>ALG5</i>	604565	221	<i>KANK4</i>	614612
17	<i>ALG8</i>	608103	222	<i>KATNIP</i>	616650
18	<i>ALG9</i>	606941	223	<i>KCNJ1</i>	600359
19	<i>ALMS1</i>	606844	224	<i>KCNJ10</i>	602208
20	<i>ALPL</i>	171760	225	<i>KCNJ5</i>	600734
21	<i>ANKFY1</i>	607927	226	<i>KIAA0586</i>	610178
22	<i>ANKS6</i>	615370	227	<i>KIAA0753</i>	617112
23	<i>ANLN</i>	616027	228	<i>KIF14</i>	611279
24	<i>AP2S1</i>	602242	229	<i>KIF7</i>	611254
25	<i>APOE</i>	107741	230	<i>KYNU</i>	605197
26	<i>APOL1</i>	603743	231	<i>KIRREL1</i>	607428
27	<i>APRT</i>	102600	232	<i>KL</i>	604824
28	<i>AQP2</i>	107777	233	<i>KLHL3</i>	605775
29	<i>ARHGAP24</i>	610586	234	<i>LAGE3</i>	300060
30	<i>ARHGDI1</i>	601925	235	<i>LAMA5</i>	601033
31	<i>ARL13B</i>	608922	236	<i>LAMB2</i>	150325
32	<i>ARL3</i>	604695	237	<i>LIFR</i>	151443

Nr.	Genas	OMIM	Nr.	Genas	OMIM
33	<i>ARL6</i>	608845	238	<i>LYZ</i>	153450
34	<i>ARMC9</i>	617612	239	<i>LMNA</i>	150330
35	<i>ATP1A1</i>	182310	240	<i>LMX1B</i>	602575
36	<i>ATP6V0A4</i>	605239	241	<i>LPIN1</i>	605518
37	<i>ATP6V1B1</i>	192132	242	<i>LRP2</i>	600073
38	<i>ATP7B</i>	606882	243	<i>LRP4</i>	604270
39	<i>ATXN10</i>	611150	244	<i>LRP5</i>	603506
40	<i>AVIL</i>	613397	245	<i>LZTFL1</i>	606568
41	<i>AVP</i>	192340	246	<i>MAFB</i>	608968
42	<i>AVPR2</i>	300538	247	<i>MAGED2</i>	300470
43	<i>B2M</i>	109700	248	<i>MAGI2</i>	606382
44	<i>B9D1</i>	614144	249	<i>MAPKBP1</i>	616786
45	<i>B9D2</i>	611951	250	<i>MYH9</i>	160775
46	<i>BBIP1</i>	613605	251	<i>MYO1E</i>	601479
47	<i>BBS1</i>	209901	252	<i>MKKS</i>	604896
48	<i>BBS10</i>	610148	253	<i>MKSI</i>	609883
49	<i>BBS12</i>	610683	254	<i>MMACHC</i>	609831
50	<i>BBS2</i>	606151	255	<i>MMADHC</i>	611935
51	<i>BBS4</i>	600374	256	<i>MMUT</i>	609058
52	<i>BBS5</i>	603650	257	<i>MOCOS</i>	613274
53	<i>BBS7</i>	607590	258	<i>MOCSI</i>	603707
54	<i>BBS9</i>	615986	259	<i>MOCS2</i>	603708
55	<i>BCS1L</i>	603647	260	<i>MUC1</i>	158340
56	<i>BICC1</i>	614295	261	<i>NEK1</i>	604588
57	<i>BMP4</i>	112262	262	<i>NEK8</i>	609799
58	<i>BMP7</i>	112267	263	<i>NFIA</i>	600727
59	<i>BNC2</i>	608669	264	<i>NFKB2</i>	164012
60	<i>BSND</i>	606412	265	<i>NODAL</i>	601265
61	<i>CIQA</i>	120550	266	<i>NOS1AP</i>	605551
62	<i>CIQB</i>	120570	267	<i>NOTCH2</i>	18026
63	<i>CIQC</i>	120575	268	<i>NPHP1</i>	607100
64	<i>C2CD3</i>	615944	269	<i>NPHP3</i>	608002
65	<i>C3</i>	613913	270	<i>NPHP4</i>	607215
66	<i>C8orf37</i>	614477	271	<i>NPHS1</i>	602716
67	<i>CA2</i>	611492	272	<i>NPHS2</i>	604766
68	<i>CACNAIS</i>	114208	273	<i>NR3C2</i>	600983
69	<i>CASR</i>	601199	274	<i>NRIP1</i>	602490

Nr.	Genas	OMIM	Nr.	Genas	OMIM
70	<i>CC2D2A</i>	612013	275	<i>NUP107</i>	607617
71	<i>CCDC28B</i>	610162	276	<i>NUP133</i>	607613
72	<i>CD151</i>	602243	277	<i>NUP160</i>	607614
73	<i>CD2AP</i>	604241	278	<i>NUP205</i>	614352
74	<i>CD46</i>	120920	279	<i>NUP85</i>	170285
75	<i>CD55</i>	125240	280	<i>NUP93</i>	614351
76	<i>CD59</i>	107271	281	<i>NXF5</i>	300319
77	<i>CDC5L</i>	602868	282	<i>OCRL</i>	300535
78	<i>CELSR2</i>	604265	283	<i>OFD1</i>	300170
79	<i>CEP104</i>	616690	284	<i>OSGEP</i>	610107
80	<i>CEP120</i>	613446	285	<i>OSR1</i>	608891
81	<i>CEP164</i>	614848	286	<i>PAX2</i>	167409
82	<i>CEP19</i>	615586	287	<i>PBX1</i>	176310
83	<i>CEP290</i>	610142	288	<i>PCBD1</i>	126090
84	<i>CEP41</i>	610523	289	<i>PDE6D</i>	602676
85	<i>CEP55</i>	610000	290	<i>PDSS2</i>	610564
86	<i>CEP83</i>	615847	291	<i>PHEX</i>	300550
87	<i>CFAP418</i>	614477	292	<i>PIBF1</i>	607532
88	<i>CFB</i>	138470	293	<i>PIGA</i>	311770
89	<i>CFH</i>	134370	294	<i>PKD1</i>	601313
90	<i>CFHR1</i>	134371	295	<i>PKD2</i>	173910
91	<i>CFHR2</i>	600889	296	<i>PKHD1</i>	606702
92	<i>CFHR3</i>	605336	297	<i>PLCE1</i>	608414
93	<i>CFHR4</i>	605337	298	<i>PLG</i>	173350
94	<i>CFHR5</i>	608593	299	<i>PMM2</i>	601785
95	<i>CFI</i>	217030	300	<i>POC1B</i>	614784
96	<i>CHD1L</i>	613039	301	<i>PRDX1</i>	176763
97	<i>CYP11B1</i>	610613	302	<i>PRKCSH</i>	177060
98	<i>CYP11B2</i>	124080	303	<i>PRPS1</i>	311850
99	<i>CYP17A1</i>	609300	304	<i>PTPRO</i>	600579
100	<i>CYP24A1</i>	126065	305	<i>PUF60</i>	604819
101	<i>CYP27B1</i>	609506	306	<i>PXDN</i>	605158
102	<i>CYP2R1</i>	608713	307	<i>REN</i>	179820
103	<i>CLCN5</i>	300008	308	<i>RET</i>	164761
104	<i>CLCNKA</i>	602024	309	<i>ROBO2</i>	602431
105	<i>CLCNKB</i>	602023	310	<i>RPGRIP1L</i>	610937
106	<i>CLDN10</i>	617579	311	<i>SALL1</i>	602218

Nr.	Genas	OMIM	Nr.	Genas	OMIM
107	<i>CLDN16</i>	603959	312	<i>SARS2</i>	612804
108	<i>CLDN19</i>	610036	313	<i>SCARB2</i>	602257
109	<i>CLPB</i>	616254	314	<i>SCLT1</i>	611399
110	<i>CLU</i>	185430	315	<i>SCN4A</i>	603967
111	<i>CNNM2</i>	607803	316	<i>SCNN1A</i>	600228
112	<i>COL4A1</i>	120130	317	<i>SCNN1B</i>	600760
113	<i>COL4A3</i>	120070	318	<i>SCNN1G</i>	600761
114	<i>COL4A4</i>	120131	319	<i>SDCCAG8</i>	613524
115	<i>COL4A5</i>	303630	320	<i>SEC61A1</i>	609213
116	<i>COL4A6</i>	303631	321	<i>SEC63</i>	608648
117	<i>COQ2</i>	609825	322	<i>SGPL1</i>	603729
118	<i>COQ6</i>	614647	323	<i>SYNPO</i>	608155
119	<i>COQ8B</i>	615567	324	<i>SIX1</i>	601205
120	<i>CPLANE1</i>	614571	325	<i>SIX2</i>	604994
121	<i>CRB2</i>	609720	326	<i>SIX5</i>	600963
122	<i>CSPP1</i>	611654	327	<i>SLC12A1</i>	600839
123	<i>CTU2</i>	617057	328	<i>SLC12A3</i>	600968
124	<i>CUBN</i>	602997	329	<i>SLC1A1</i>	133550
125	<i>CUL3</i>	603136	330	<i>SLC22A12</i>	607096
126	<i>DAAM2</i>	606627	331	<i>SLC26A1</i>	610130
127	<i>DACH1</i>	603803	332	<i>SLC2A2</i>	138160
128	<i>DCDC2</i>	605755	333	<i>SLC2A9</i>	606142
129	<i>DDX59</i>	615464	334	<i>SLC34A1</i>	182309
130	<i>DGKE</i>	601440	335	<i>SLC34A3</i>	609826
131	<i>DHCR7</i>	602858	336	<i>SLC36A2</i>	608331
132	<i>DYNC2H1</i>	603297	337	<i>SLC3A1</i>	104614
133	<i>DYNC2LI1</i>	617083	338	<i>SLC41A1</i>	610801
134	<i>DLC1</i>	604258	339	<i>SLC4A1</i>	109270
135	<i>DMP1</i>	600980	340	<i>SLC4A4</i>	603345
136	<i>DNAJB11</i>	611341	341	<i>SLC5A1</i>	182380
137	<i>DNASE1L3</i>	602244	342	<i>SLC5A2</i>	182381
138	<i>DSTYK</i>	612666	343	<i>SLC6A19</i>	608893
139	<i>DZIP1L</i>	617570	344	<i>SLC6A20</i>	605616
140	<i>EGF</i>	126150	345	<i>SLC7A7</i>	603593
141	<i>EGFR</i>	131550	346	<i>SLC7A9</i>	604144
142	<i>EHHADH</i>	607037	347	<i>SLC9A3R1</i>	604990
143	<i>EYAI</i>	601653	348	<i>SLIT2</i>	603746

Nr.	Genas	OMIM	Nr.	Genas	OMIM
144	<i>EMP2</i>	602334	349	<i>SMARCAL1</i>	606622
145	<i>ENPP1</i>	173335	350	<i>SOX17</i>	610928
146	<i>ETFA</i>	608053	351	<i>SPRY1</i>	602465
147	<i>EXOC8</i>	615283	352	<i>SRGAP1</i>	606523
148	<i>FAH</i>	613871	353	<i>STRADA</i>	608626
149	<i>FAM111A</i>	615292	354	<i>SUFU</i>	607035
150	<i>FAM149B1</i>	618413	355	<i>TBC1D1</i>	609850
151	<i>FAM20A</i>	611062	356	<i>TBC1D8B</i>	301027
152	<i>FAM58A</i>	300708	357	<i>TBX18</i>	604613
153	<i>FANI</i>	613534	358	<i>TBX6</i>	602427
154	<i>FANCB</i>	300515	359	<i>TCTN1</i>	609863
155	<i>FAT1</i>	600976	360	<i>TCTN2</i>	613846
156	<i>FBXW7</i>	606278	361	<i>TCTN3</i>	613847
157	<i>FGA</i>	134820	362	<i>TFAP2A</i>	107580
158	<i>FGF20</i>	605558	363	<i>THBD</i>	188040
159	<i>FGF23</i>	605380	364	<i>TMEM107</i>	616183
160	<i>FIBP</i>	608296	365	<i>TMEM138</i>	614459
161	<i>FLCN</i>	607273	366	<i>TMEM216</i>	613277
162	<i>FN1</i>	135600	367	<i>TMEM231</i>	614949
163	<i>FOXC1</i>	601090	368	<i>TMEM237</i>	614423
164	<i>FOXC2</i>	602402	369	<i>TMEM67</i>	609884
165	<i>FOXJ1</i>	601093	370	<i>TNS2</i>	607717
166	<i>FRAS1</i>	607830	371	<i>TP53RK</i>	608679
167	<i>FREMI</i>	608944	372	<i>TPRKB</i>	608680
168	<i>FREM2</i>	608945	373	<i>TRAF3IP1</i>	607380
169	<i>FXRD2</i>	601814	374	<i>TRAP1</i>	606219
170	<i>GANAB</i>	104160	375	<i>TRAPPC3</i>	610955
171	<i>GAPVD1</i>	611714	376	<i>TRIM32</i>	602290
172	<i>GATA2</i>	137295	377	<i>TRIM8</i>	606125
173	<i>GATA3</i>	131320	378	<i>TRPC6</i>	603652
174	<i>GATM</i>	602360	379	<i>TRPM6</i>	607009
175	<i>GDNF</i>	600837	380	<i>TSC1</i>	605284
176	<i>GLA</i>	300644	381	<i>TSC2</i>	191092
177	<i>GLI2</i>	165230	382	<i>TTC21B</i>	612014
178	<i>GLI3</i>	165240	383	<i>TTC8</i>	608132
179	<i>GLIS2</i>	608539	384	<i>TXNDC15</i>	617778
180	<i>GNAI1</i>	139313	385	<i>UMOD</i>	191845

Nr.	Genas	OMIM	Nr.	Genas	OMIM
181	<i>GNAS</i>	139320	386	<i>UPK3A</i>	611559
182	<i>GON7</i>	617436	387	<i>VDR</i>	601769
183	<i>GPHN</i>	603930	388	<i>VHL</i>	608537
184	<i>GREBIL</i>	617782	389	<i>VIPAS39</i>	613401
185	<i>GREM1</i>	603054	390	<i>VPS33B</i>	608552
186	<i>GRHPR</i>	604296	391	<i>WDPCP</i>	613580
187	<i>GRIP1</i>	604597	392	<i>WDR19</i>	608151
188	<i>GSN</i>	137350	393	<i>WDR34</i>	613363
189	<i>HYLS1</i>	610693	394	<i>WDR35</i>	613602
190	<i>HNFB1B</i>	189907	395	<i>WDR60</i>	615462
191	<i>HNFB4A</i>	600281	396	<i>WDR72</i>	613214
192	<i>HOGA1</i>	613597	397	<i>WDR73</i>	616144
193	<i>HPRT1</i>	308000	398	<i>WNK1</i>	605232
194	<i>HPSE2</i>	613469	399	<i>WNK4</i>	601844
195	<i>HRPT1</i>	145000	400	<i>WNT4</i>	603490
196	<i>HSD11B2</i>	614232	401	<i>WNT5A</i>	164975
197	<i>HSD3B2</i>	613890	402	<i>WT1</i>	607102
198	<i>IFT122</i>	606045	403	<i>XDH</i>	607633
199	<i>IFT140</i>	614620	404	<i>XPBPEP3</i>	613553
200	<i>IFT172</i>	607386	405	<i>XPO5</i>	607845
201	<i>IFT27</i>	615870	406	<i>ZIC3</i>	300265
202	<i>IFT43</i>	614068	407	<i>ZMYM2</i>	602221
203	<i>IFT52</i>	617094	408	<i>ZNF423</i>	604557
204	<i>IFT74</i>	608040	409	<i>GALNT3</i>	601756
205	<i>IFT80</i>	611177	410	<i>TMEM218</i>	619285

SUMMARY

ABBREVIATIONS

ACMG	– American College of Medical Genetics and Genomics
ADPKD	– autosomal dominant polycystic kidney disease
ARPKD	– autosomal recessive polycystic kidney disease
CAKUT	– congenital anomalies of the kidneys and urinary tract
CKD	– chronic kidney disease
CMG	– Centre for Medical Genetics
CNV	– copy number variation
eGFR	– estimated glomerular filtration rate
HANAC	– hereditary angiopathy, nephropathy, aneurysms, and muscle cramps
Hmi	– hemizygous
Hmz	– homozygous
<i>HNFI1B</i>-RD	– <i>HNFI1B</i> -related disorder
Htz	– heterozygous
LP	– likely pathogenic
MCDK	– multicystic dysplastic kidney
MGCL	– Molecular Genetics and Cytogenetics Laboratory
MLPA	– multiplex ligation-dependent probe amplification
NGS	– next-generation sequencing
NPHP	– nephronophthisis
NPHP-RC	– nephronophthisis-related ciliopathy
OMIM	– Online Mendelian Inheritance in Man
P	– pathogenic
<i>PAX2</i>-RD	– <i>PAX2</i> -related disorder
PKD	– polycystic kidney disease
PKDB	– autosomal dominant polycystic kidney disease variant database
SNP	– single-nucleotide polymorphism
TSC	– tuberous sclerosis complex
VUH SK	– Vilnius University Hospital Santaros Klinikos
VUS	– variant of unknown significance

INTRODUCTION

Genetic kidney diseases are among the most common causes of early-onset chronic kidney disease (CKD), which account for more than 10–15% of cases requiring kidney replacement therapy (1). Cystic kidney diseases constitute one of the largest groups of genetic kidney disorders and are associated with approximately 100 genes. Among them, autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) is one of the most prevalent hereditary conditions (2,3).

The increasing accessibility of high-throughput sequencing technologies has led to a breakthrough in the field of kidney disease genetics. The widespread application of these methods in clinical diagnostics and research has resulted in an unexpected shift in the understanding of disease phenotypes and diagnostic categories, providing novel etiological insights (4). In a study conducted in Ireland, whole-exome sequencing performed in adults with CKD identified a molecular diagnosis in 37% of the cases, with cystic kidney diseases representing the largest subgroup (19%) (5). In another study, congenital or cystic kidney diseases accounted for the largest proportion of genetic diagnoses (23.9%) as well (6).

Molecular diagnosis is becoming increasingly significant in assessing disease prognosis and in enabling the efficient application of emerging targeted therapies. Han et al. investigated long-term outcomes in patients with genetic kidney diseases receiving kidney replacement therapy. Kidney transplant recipients with genetic kidney disease exhibited a reduced 10-year mortality risk compared with patients with other causes of kidney disease, with this effect being particularly pronounced in the polycystic kidney disease subgroup (7). When considering treatment with *tolvaptan*, it is essential to assess the risk of rapid disease progression, which may be influenced by certain genetic variants (8). Equally important is the identification of atypical cases in which such treatment would be unlikely to provide significant benefit (9).

Although inherited cystic kidney diseases are genetically determined, they are primarily diagnosed based on clinical findings. However, clinical diagnosis can be challenging due to variable expression, phenotypic similarities among different diseases, and the importance of establishing an accurate genetic diagnosis through genetic testing has been proven. Bullich et al. demonstrated that targeted sequencing of kidney disease-associated genes in the cohort of cystic kidney disease patients resulted in a changed or entirely new diagnosis in at least 16% of cases compared to the initial clinical diagnosis (10). Importantly, extrarenal manifestations do not always correlate

with the severity of kidney involvement. Observational and genetic studies of the most common cystic kidney disease, ADPKD, have provided new insights. For instance, polycystic liver disease accompanying ADPKD does not necessarily correlate directly with the severity of kidney disease (11). This suggests that modifying genetic factors or gene dosage effects may influence both renal and extrarenal phenotypes in ADPKD (12), which leads to an increased interest not only in genetic but also in epigenetic mechanisms (13–15). In addition, atypical forms of ADPKD have been more recently recognized and analyzed as a distinct group characterized by unique clinical and genetic features (16). Although the *PKD1* and *PKD2* genes were linked to ADPKD in 1985 and 1996, respectively (17,18), it took at least another two decades for additional genes – *GANAB*, *DNAJB11*, *ALG5*, and *NEK8* – to be included among the disease-causing genes (19–22). Furthermore, several ADPKD phenocopies have been described (23–25). Nevertheless, 5–10% of patients with ADPKD remain without an identified genetic cause (26,27). This indicates that the genetic heterogeneity of one of the most common inherited diseases has not yet been fully clarified. Therefore, the continued development of cohorts of patients with inherited cystic kidney diseases remains relevant.

A **PubMed** database search using the keywords “cystic kidney” and “next-generation sequencing” shows that next-generation sequencing (NGS) began to be applied at an experimental level to the study of cystic kidney diseases (nephronophthisis-related ciliopathies) in around 2010 (28). Within a few years, the integration of this method into personalized medicine for diagnosing inherited kidney diseases became a topic of discussion in the scientific literature (29). In Lithuania, NGS was first introduced for the genetic investigation of kidney diseases in 2017; however, the number of tests remained limited, amounting to only a few cases per year. This was likely due to insufficient physician awareness of the diagnostic potential of genetic testing and the spectrum of rare inherited kidney diseases, particularly in the adult population. Within this context, the present study aims to contribute to the expansion of genetic diagnostics for inherited kidney diseases in Lithuania. The primary objective of this work was to identify the most common and rare genetic causes in a cohort of patients with multiple kidney cysts by using the NGS method. We also aimed to identify atypical cases of ADPKD and phenocopies of this disease.

Aim of the Study

To evaluate the spectrum of phenotypic and genotypic variation in individuals with multiple kidney cysts and to identify genotype–phenotype associations in the *PKD1/PKD2* group.

Objectives of the Study

1. To investigate genes associated with cystic kidney diseases and to characterize the genetic architecture of these diseases in the studied patient group.
2. To compare genetic and clinical characteristics between patient groups with specific and nonspecific kidney cyst phenotypes.
3. To analyze the genotypes and clinical manifestations of patients with autosomal dominant polycystic kidney disease.
4. To evaluate the phenotype of patients harboring truncating and non-truncating variants in the *PKD1* and *PKD2* genes.
5. To characterize the clinical manifestations of patients diagnosed with cystic kidney diseases other than autosomal dominant polycystic kidney disease.

Novelty, Relevance, and Significance of the Study

To date, no scientific studies have been conducted in Lithuania focusing on the analysis of the genetic causes of cystic kidney diseases, and genetic testing for these conditions has only rarely been applied in clinical practice. Whereas, this study aimed to identify the most common and rare genetic causes of diseases manifesting with multiple kidney cysts and to evaluate their distribution within the studied population. By characterizing clinical phenotypes and the identified genetic alterations, the study aimed to provide insights and recommendations for genetic testing that would be beneficial in personal health care services to patients.

During the study, a cohort of patients with cystic kidney diseases undergoing genetic testing was established for the first time in Lithuania. To the best of our knowledge, no studies have been previously published in Lithuania or other Baltic countries that systematically evaluate the genotype and phenotype of patients with cystic kidney diseases. In the study, unique and novel pathogenic and likely pathogenic genetic variants were detected, providing additional insights into the genetic etiology of cystic kidney diseases. Phenotypic assessment of the study subjects yielded important insights into less common clinical disease variants and their phenotypic

heterogeneity. In addition, data obtained on genetic variants of uncertain significance provided additional information for further investigation into the potential pathogenicity of a subset of these variants.

METHODOLOGY

The scientific study was conducted at Vilnius University Hospital Santaros Klinikos (VUH SK). Ethical approval for the study was obtained from Vilnius Regional Biomedical Research Ethics Committee (Approval No. 2021/6-1356-831).

Scheme of the Study

In this study, genetic testing was performed within a diagnostic framework, and the results were returned to patients and referring physicians. A schematic overview of the study design is presented in Figure 1.

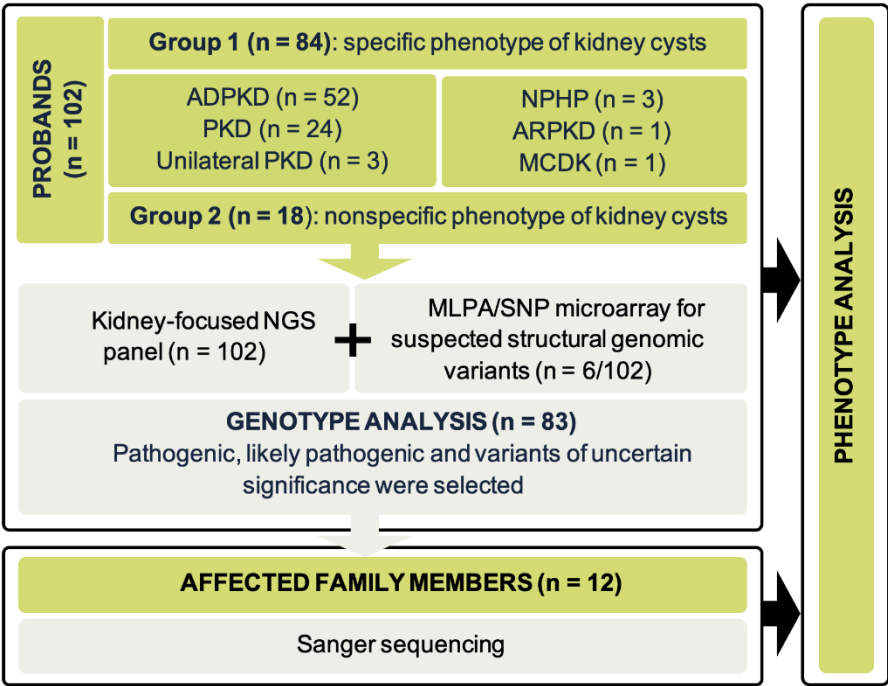


Figure 1. Scheme of the study.

Abbreviations: ADPKD – autosomal dominant polycystic kidney disease; ARPKD – autosomal recessive polycystic kidney disease; MCDK – multicystic dysplastic kidney; MLPA – multiplex ligation-dependent probe amplification; NGS – next-generation sequencing; NPHP – nephronophthisis; PKD – polycystic kidney disease; SNP – single-nucleotide polymorphism

Patients

Between 2021 and 2025, the study cohort was assembled at the Centre for Medical Genetics, VUH SK, and included 114 patients (from 102 families) who met the following inclusion criteria:

1. A cystic kidney disease phenotype (such as polycystic kidney disease, multicystic dysplastic kidney, nephronophthisis, or other), or
2. Multiple kidney cysts without a clear cystic kidney disease phenotype and without an identified acquired kidney disease (nonspecific kidney cysts).

Genetic Analysis

Genetic testing was performed according to a diagnostic protocol at the Molecular Genetics and Cytogenetics Laboratory (MGCL) of the Centre for Medical Genetics, in accordance with approved laboratory procedures. The genetic testing of patients was performed by using DNA extracted from peripheral blood samples via standard procedures using the phenol–chloroform–isoamyl alcohol extraction method.

Next-Generation Sequencing

Whole-exome sequencing and primary steps of preprocessing raw sequencing data were performed by the subcontracting NGS provider (CeGaT GmbH, Tübingen, Germany) under a contractual agreement with VUH SK using the high-throughput next-generation *Illumina* (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) platform. The following data files were received from the NGS service provider: raw sequencing data (.fastq), reads aligned to the reference genome (.bam), and variant call files containing the identified single-nucleotide variants, short deletions and/or insertions, and structural variants (.vcf). Analysis of the obtained sequencing data (FASTQ, BAM, VCF files) was further performed at MGCL, while using a validated in-house bioinformatic pipeline.

Inherited Kidney Disease Gene Panel Analysis

Annotation and interpretation of sequencing data from the inherited kidney disease gene panel (Appendix 1) were performed at MGCL, by using *ANNOVAR 2020Jul08* (107). All genomic variants meeting the quality criteria were annotated. Following the annotation, *ANNOVAR* output files were further processed by integrating data from OMIM (<https://www.omim.org/>), Orphanet (<https://www.orpha.net/>), and the internal MGCL NGS database.

They were converted to the *Microsoft Excel* format by using an MGCL-developed script “*PostAnotacinis_SNP_INDEL_procesas.sh*”. Data files containing genomic variants located in genes included in the inherited kidney disease gene panel were generated by using an MGCL-developed script “*Genu_rinkiniu_filtras.sh*”.

Variant analysis and interpretation were performed following the guidelines of the American College of Medical Genetics and Genomics (108,109). Variants were filtered based on the allele frequency by using the 1000 Genomes Project (1000GP) (110), the Exome Aggregation Consortium (ExAC), and the Genome Aggregation Database (GnomAD) (111), applying a rare allele frequency threshold of $\leq 2\%$. *In silico* pathogenicity predictions for the identified genomic variants were assessed by using tools included in the dbNSFP (*database of Human Non-synonymous SNVs*) resource (112).

Gene panel data analysis, annotation, and interpretation were conducted by using the GRCh38/hg38 (*Genome Reference Consortium Human Build 38*) reference genome and/or GRCh37/hg19 (113).

Based on the structural variant detection algorithm applied by researchers at CeGaT (Center for Genomics and Transcriptomics) during next-generation (whole-exome) sequencing, suspected structural genomic variants involving genes associated with inherited kidney diseases were identified. Annotated structural variant results were processed by using AnnotSV, with data integrated from the OMIM and Orphanet databases, and exported in the *Microsoft Excel* format. The entire process was performed by using an MGCL-developed script “*CNV_scriptas.sh*”.

Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification

Five patients were tested for suspected structural variants by multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) using individually selected probe sets. One patient was tested using the MRC-Holland SALSA MLPA Probemix P351025R PKD1 probe set. One patient was tested using the MRC-Holland SALSA MLPA Probemix P352-025R PKD1-PKD2 probe set. Three patients were tested for the copy number of the exons encoding the *NPHP1* gene using the MRC-Holland SALSA MLPA Probemix P387-A3 NPHP1 probe set.

SNP Microarray

To confirm or exclude a suspected structural variant in one patient, a single-nucleotide polymorphism (SNP) microarray was performed using the

Infinium® LCG method on the Infinium Global Diversity Array with the Cytogenetics-8 v1.0 platform (Illumina).

Copy number variation (CNV) analysis was carried out using GenomeStudio™ Genotyping Module v2.0.5 and GenomeStudio™ CNVPartition v3.2.0 software. To identify CNVs, bioinformatic analysis was performed using genome and chromosome browsers within the GenomeStudio™ Genotyping Module v2.0.5 and by referencing multiple databases (DGV (<https://dgv.tcag.ca/>), ClinGen (<https://clinicalgenome.org/>), DECIPHER (<https://deciphergenomics.org/>), NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), ENSEMBL (<https://www.ensembl.org/index.html>), ECARUCA, and others). The pathogenicity of the identified CNV was assessed using a semi-quantitative point-based scoring system (114).

Sanger Sequencing

For the following segregation analysis, Sanger sequencing was performed using DNA samples of the patients' relatives. DNA sequence flanking the familial variants of the *PKD1*, *PKD2*, *PAX2*, and *HNF1B* genes was amplified using the PCR Master Mix (2X) according to the manufacturer's protocol (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Specific primers designed with Primer3web (115) for the familial variants of these genes were available upon request. Sanger sequencing was performed using the BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), and an automatic genetic analyzer ABI PRISM 3130xl (Applied Biosystems, USA) according to the manufacturer's protocol. The obtained sequences were aligned with the main reference sequences of *PKD1* (NCBI: NM_001009944.3), *PKD2* (NCBI: NM_000297.4), *PAX2* (NCBI: NM_000278.5), and *HNF1B* (NCBI: NM_000458.4).

Variant Selection

Pathogenic (class 5), likely pathogenic (class 4), and variants of uncertain significance (VUS) (class 3) were selected for phenotype associations. Pathogenic/likely pathogenic variants were considered diagnostic. Nonsense, frameshift, splice site variants, and large deletions/insertions were labeled as truncating, whereas missense variants and small in-frame deletions/insertions were categorized as non-truncating. During the study, variant pathogenicity classification was re-evaluated by using the VarSome bioinformatic tool (<https://varsome.com/>), while applying the criteria of ACMG. The novelty of the variants was investigated in the published literature and public variant

databases – ClinVar, VarSome, and the ADPKD Variant Database (PKDB) (<http://pkdb.mayo.edu>), which only contains information on *PKD1* and *PKD2* genes. The location of novel variants within the protein sequence was examined by using the UniProt database (<https://www.uniprot.org/>).

Clinical Data Analysis

Demographic data (sex, age at study inclusion), genealogy, and clinical information were collected and analyzed for all patients. Clinical data extracted from medical records included results of radiological examinations (ultrasonography, computed tomography, magnetic resonance imaging) of the abdomen, kidneys, brain, and heart, laboratory test results (estimated glomerular filtration rate (eGFR), serum creatinine, urea, uric acid, and urinalysis), established clinical diagnoses, and information on prior transplantations. CKD stages were determined according to the KDIGO 2024 Clinical Practice Guidelines for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease (116). Comparative analysis of clinical data between the groups was performed in adult participants only.

Statistical Analysis

The normality of the data distribution was tested via the Shapiro–Wilk test. Quantitative variables are presented as medians with interquartile ranges (IQR). Comparisons between two independent groups were performed by using the independent-samples *t* test for normally distributed data and the nonparametric Mann–Whitney U test for non-normally distributed data. Frequencies of categorical variables were compared by using the χ^2 test. Fisher’s exact test was applied when the sample size was small or when any expected cell count was less than five. Differences were considered statistically significant at a *p* value < 0.05.

Comparisons of quantitative variables between the *PKD1* and *PKD2* groups were performed by using a general linear model for normally distributed data and a nonparametric analysis of covariance (ANCOVA) for non-normally distributed data. Age was included as a covariate in all models. Binary logistic regression adjusted for age was used for the analysis of dichotomous variables. A two-tailed *p* value of <0.05 was considered statistically significant.

Statistical analysis was performed by using *IBM SPSS Statistics* software (version 31.0.0.0) and *Microsoft Excel* (version 16.101.2).

RESULTS

Among the 114 patients included in the study, 65 (57.02%) were females, and 101 (88.6%) were adults (≥ 18 years). The patient age ranged from 1 month to 78 years. A positive family history was identified in 57 families (55.88%). Demographic and general clinical characteristics of the study cohort are summarized in Table 1.

Table 1. Demographic and general clinical characteristics of the study cohort

	All participants (n = 114)	Probands (n = 102)		Family members (n = 12)
		Adults (n = 93)	Children (n = 9)	
Female	65 (57.02%)	52 (55.91%)	6 (66.67%)	7 (58.33%)
Male	49 (42.98%)	41 (44.09%)	3 (33.33%)	5 (41.67%)
Age, years	39 [28–51]	44 [34–54]	14 [6–16]	28.5 [13–35.5]
Positive family history	69 (60.53%)	53 (56.99%)	4 (44.44%)	12 (100%)
Negative family history	39 (34.21%)	34 (36.56%)	5 (55.56%)	–
Inconclusive family history	6 (5.26%)	6 (6.45%)	0 (0%)	–
eGFR, mL/min/1.73 m ²	83.5 [46–104]	70 [43–95]	98.1 [81–105]	90 [87–108.5]
Creatinine, μ mol/L	88 [69.5–136]	94 [72–150]	60 [43–76]	78 [58.5–94]
Urea, mmol/L	6.42 [4.8–10.2]	6.6 [3.2–25.7]	5.75 [3.4–12.4]	5.15 [3.5–20]
Uric acid, μ mol/L	353 [298–438]	361 [196–840]	222 [196–498]	290.5 [203–683]
CKD stage G1	38 (33.33%)	27 (29.03%)	5 (55.56%)	6 (50.00%)
CKD stage G2	25 (21.93%)	18 (19.35%)	3 (33.33%)	4 (33.33%)
CKD stage G3	20 (17.54%)	18 (19.35%)	1 (11.11%)	1 (8.33%)
CKD stage G4	10 (8.77%)	10 (10.75%)	0 (0%)	0 (0%)
CKD stage G5	12 (10.53%)	11 (11.83%)	0 (0%)	1 (8.33%)
CKD stage unknown	9 (7.89%)	9 (9.68%)	0 (0%)	0 (0%)
Arterial hypertension	66 (57.89%)	60 (64.52%)	3 (33.33%)	3 (25%)

Abbreviations: CKD – chronic kidney disease; eGFR – estimated glomerular filtration rate

The distribution of primary clinical diagnoses or kidney cyst phenotypes among probands, as determined based on referral data for genetic consultation, is presented in Figure 2. Approximately three-quarters of cases comprised phenotypes associated with polycystic kidney disease. In nearly one-fifth of the referred patients, no specific kidney cyst phenotype was identified.

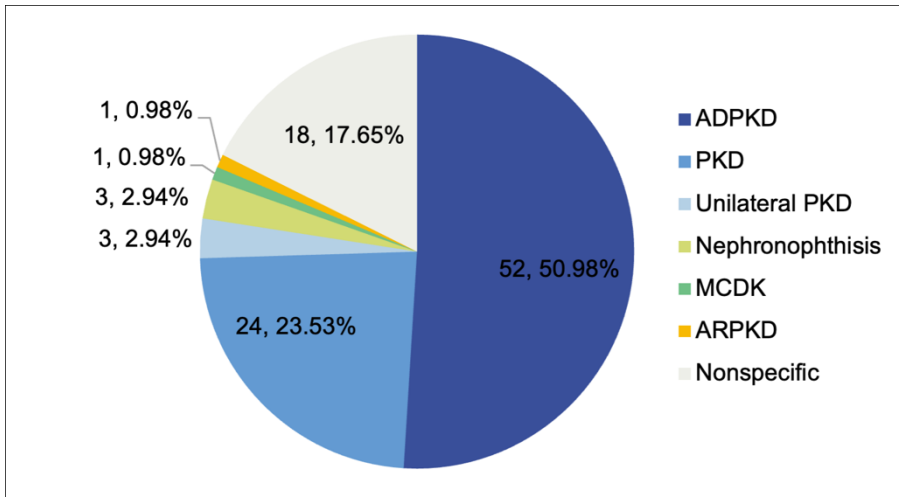


Figure 2. Distribution of primary clinical diagnoses or kidney cyst phenotypes among probands.

Abbreviations: ADPKD – autosomal dominant polycystic kidney disease; ARPKD – autosomal recessive polycystic kidney disease; MCDK – multicystic dysplastic kidney; PKD – polycystic kidney disease

Genetic Architecture of Cystic Kidney Diseases in the Studied Patient Cohort

Following molecular genetic testing, pathogenic and likely pathogenic variants were identified in 70 probands (68.63%), VUS in 13 probands (12.75%), and no phenotype-associated variants were detected in 19 probands (18.63%). The distribution of the established molecular diagnoses is shown in Figure 3. The most frequent diagnosis was ADPKD, caused by variants in the *PKD1* gene (46 probands), the *PKD2* gene (10 probands), and the *GANAB* gene (1 proband). Nephronophthisis-related ciliopathy (NPHP-RC) due to *NPHP1* gene variants was diagnosed in three probands, as was Alport syndrome associated with *COL4A5* gene variants. Two probands were diagnosed with a *PAX2*-related disorder (*PAX2*-RD), and two probands had an *HNF1B*-related disorder (*HNF1B*-RD) (one with a point mutation and one with a whole gene deletion). The remaining diagnoses were identified in single cases and included autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD) (*PKHD1* gene), HANAC (hereditary angiopathy, nephropathy, aneurysms, and muscle cramps) syndrome (*COL4A1* gene), and tuberous sclerosis complex (TSC) (*TSC2* gene).

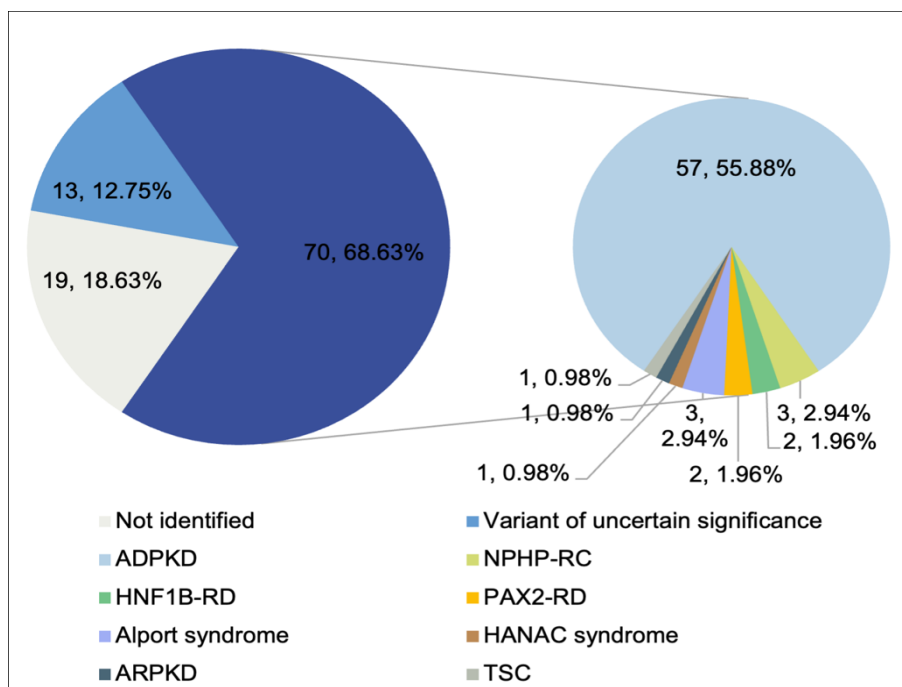


Figure 3. Distribution of molecular diagnoses.

Abbreviations: ADPKD – autosomal dominant polycystic kidney disease; ARPKD – autosomal recessive polycystic kidney disease; HANAC – hereditary angiopathy, nephropathy, aneurysms, and muscle cramps; *HNF1B*-RD – *HNF1B*-related disorder; NPHP-RC – nephronophthisis-related ciliopathy; *PAX2*-RD – *PAX2*-related disorder; TSC – tuberous sclerosis complex

Structural Genomic Variants

In this study, structural genomic variants were suspected in six probands. Additional investigations were performed to confirm the suspected alterations. In proband P83, a heterozygous deletion of *PKD1* exons 31–34 (NG_008617.1:g.(?_2097147)_(2097926_?)del) was suspected and confirmed by MLPA. In proband P11, a duplication of exon 1 in the *PKD1* gene was suspected but not confirmed by MLPA, and genetic diagnosis was not detected. Three patients were confirmed to have *NPHP1* gene deletions – homozygous in probands P79 and P95, and heterozygous in proband P98. In this proband, a second pathogenic alteration in the *NPHP1* gene was identified as a single-nucleotide variant. A whole-gene deletion of *HNF1B* was suspected in proband P97, and a SNP microarray analysis identified a 1.484 Mb deletion in the 17q12 genomic region of chromosome 17 (arr[GRCh38] 17q12(36409857_37902763)×1), encompassing the entire *HNF1B* gene as well as other disease-associated genes, including *ACACA*, *PIGW*, and *ZNHIT3*.

Segregation Analysis

Twelve affected family members from eight families underwent segregation analysis, and Sanger sequencing confirmed familial variants in the *PKD1*, *PKD2*, *PAX2*, and *HNF1B* genes. Most of these variants were classified as pathogenic or likely pathogenic according to the ACMG criteria. An exception was the *PKD2* variant c.843+3A>G, identified in families P64 and P84, which is currently classified as VUS.

Comparison of Specific and Nonspecific Kidney Cyst Phenotype Groups

According to the selection criteria, the patients were divided into two groups:

1. Group 1 consisted of 84 families referred with a defined cystic kidney disease phenotype. Of these, 79 had ADPKD-like phenotypes: 52 were clinically diagnosed with ADPKD based on kidney imaging findings and a positive family history; 24 were clinically suspected of having polycystic kidney disease (PKD) but had a negative family history; 3 had unilateral polycystic kidney disease. Additionally, three families had an NPHP-like phenotype, one had a CAKUT-like phenotype (multicystic dysplastic kidney), and one had an ARPKD-like phenotype. The age of patients in this group ranged from 0 to 78 years, with 12 individuals (12.77%) being children. End-stage CKD was diagnosed in 11 patients; among them, 7 underwent kidney transplantation at ages ranging from 11 to 60 years.
2. Group 2 consisted of 18 families with multiple kidney cysts without a clear cystic kidney disease phenotype (defined as nonspecific kidney cysts). The age of the patients in this group ranged from 6 to 76 years, with 1 individual (5%) being a child. One patient underwent kidney transplantation at the age of 7 years.

When comparing the two groups, data from adult probands were analyzed (see Table 2). In this and further analyses, renal function parameters were excluded for those patients who had undergone kidney transplantation. In addition, the exact eGFR was unavailable for several patients and was reported only as $< 15 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ (4 cases in Group 1) or $> 90 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ (2 cases in Group 1). Precise kidney size measurements were also unavailable for a subset of patients. In Group 1, the kidney size was reported as enlarged or unmeasurable in 7 patients and as normal in 1 patient; whereas, in Group 2, kidney size was reported as normal in 5 patients.

Table 2. Comparison of demographic and clinical characteristics between adult patients in Groups 1 and 2

	Group 1	Group 2	<i>p</i> value
	Probands (n = 76)	Probands (n =17)	
Female	46 (60.53%)	6 (35.29%)	0.058
Male	30 (39.47%)	11 (64.71%)	
Age, years	42.5 [34–52]	46 [38–62]	0.077
Positive family history	52 (68.42%)	7 (41.18%)	0.035
Molecular diagnosis established	56 (73.68%)	8 (47.06%)	0.032
eGFR, mL/min/1.73 m ²	72 [43–93.5]	66 [40–96]	0.624
Creatinine, µmol/L	92.5 [72–150]	102 [73–159]	0.723
Urea, mmol/L	6.52 [4.9–11.8]	7.45 [5.35–11.35]	0.443
Uric acid, µmol/L	351 [314–431.5]	428.5 [366.5–465.5]	0.075
Right kidney length, mm	147 [125.5–186]	110 [105.5–116.5]	< 0.001
Left kidney length, mm	156.5 [129.5–186]	119.5 [107.5–131.5]	0.002
Arterial hypertension	50 (65.79%)	10 (58.82%)	0.587
Liver cysts / polycystic liver disease	50 (65.79%)	4 (23.53%)	0.003

Abbreviation: eGFR – estimated glomerular filtration rate

Although the distribution of females and males differed between the groups, this difference was not statistically significant. A positive family history was significantly more frequent in Group 1 than in Group 2 (68.42% vs. 41.18%, $p = 0.035$). Accordingly, the frequency of established molecular diagnoses was significantly higher in the group with a specific kidney phenotype ($p = 0.032$).

The renal function parameters did not differ between the groups; however, the kidney size differed significantly, with both right and left kidney lengths being smaller in Group 2 than in Group 1 (see Figure 4). The prevalence of arterial hypertension did not differ significantly between the groups, whereas the frequency of liver cysts or polycystic liver disease was significantly lower in Group 2 compared with Group 1.

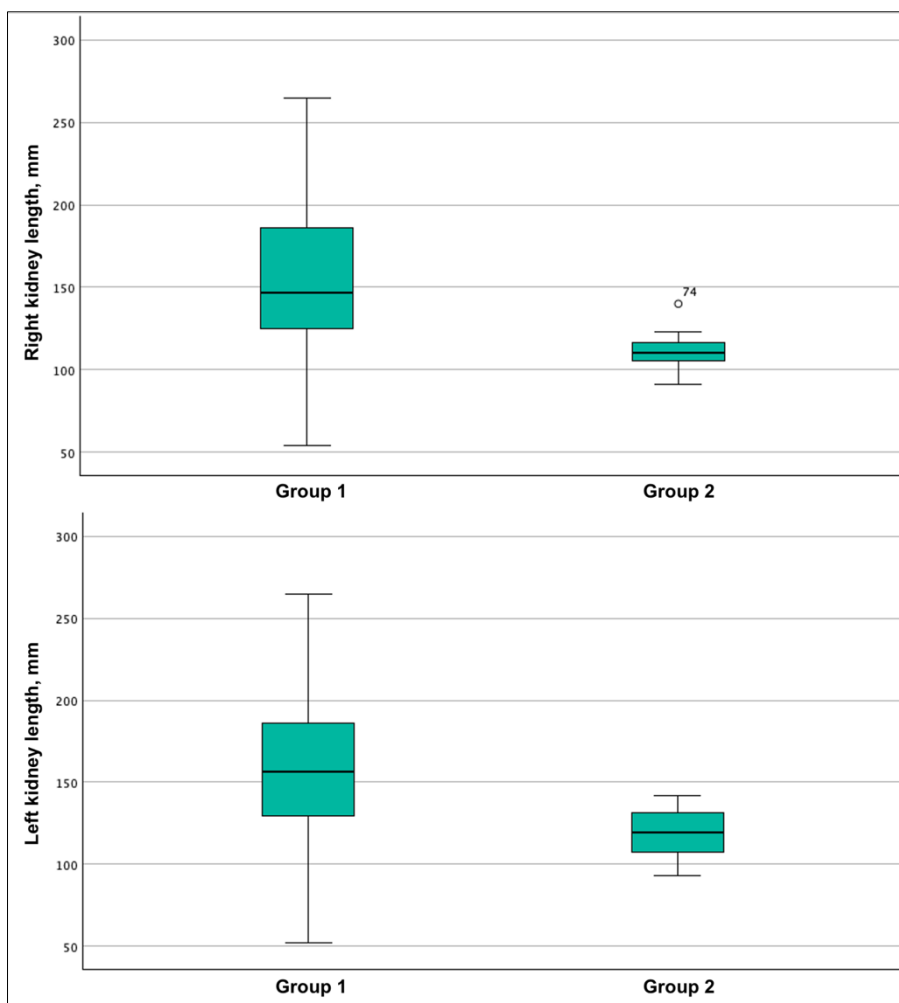


Figure 4. Distribution of kidney size in adult probands by group

When comparing the two patient groups, a higher genetic diagnostic yield was observed in Group 1 (72.61%) than in Group 2 (50%) (see Figure 5). Accordingly, no phenotype-related variants were identified in 13.10% and 38.89% of the families in Groups 1 and 2, respectively, while the remaining families harbored variants of uncertain significance.

In Group 1, most molecular diagnoses were ADPKD, as identified in 56 families (66.66%). Other diagnoses were identified only in isolated cases: two families (2.38%) with NPHP-SC and one family (1.19%) each with HANAC syndrome, ARPKD, and *PAX2*-RD. Variants of uncertain significance were detected in the *PKD1* and *PKD2* genes.

In Group 2, Alport syndrome was identified in three families (16.67%), and *HNF1B*-RD was established in two families (11.11%); the remaining

isolated cases included ADPKD, *PAX2*-RD, NPHP-SC, and TSC. Variants of uncertain significance were identified in the *PKD1* and *UMOD* genes.

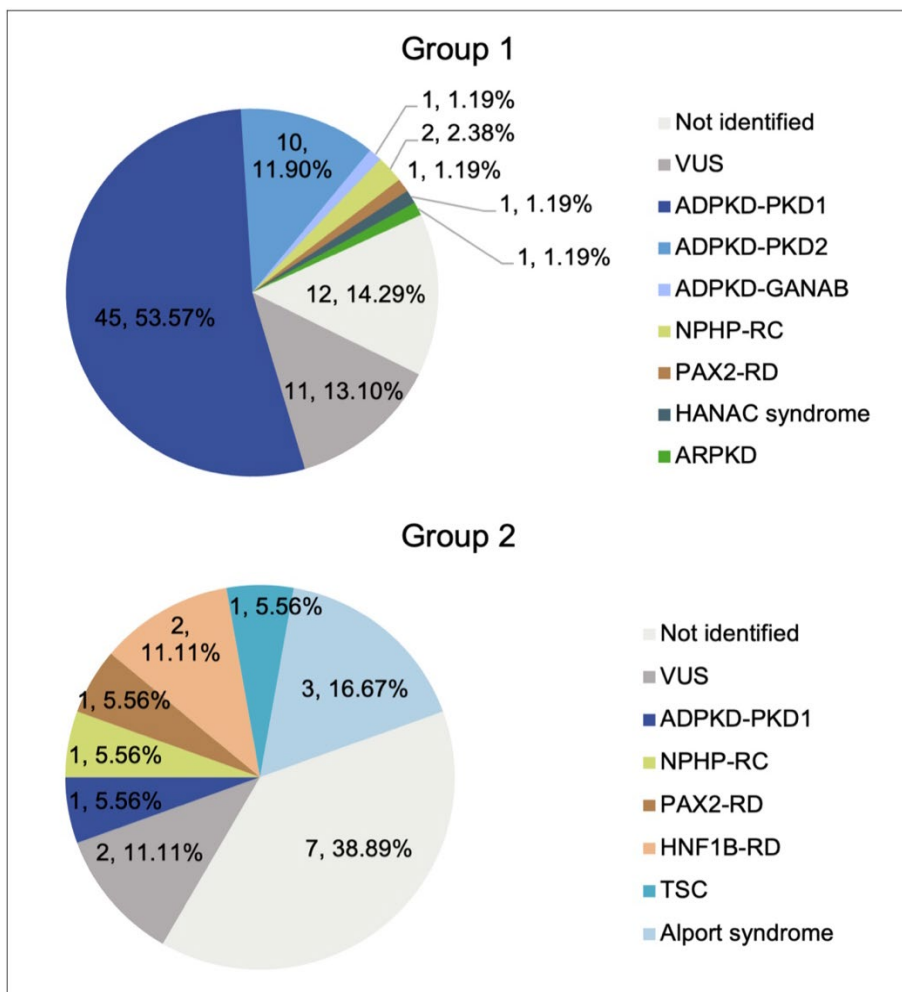


Figure 5. Distribution of molecular diagnoses in Groups 1 and 2.

Abbreviations: ADPKD – autosomal dominant polycystic kidney disease; ARPKD – autosomal recessive polycystic kidney disease; HANAC – hereditary angiopathy, nephropathy, aneurysms, and muscle cramps; *HNF1B*-RD – *HNF1B*-related disorder; NPHP-RC – nephronophthisis-related ciliopathy; *PAX2*-RD – *PAX2*-related disorder; TSC – tuberous sclerosis complex

Further, the distribution of established diagnoses was evaluated by subdividing each group into subgroups according to the clinical kidney cyst phenotype and the family history (see Figure 6).

A molecular diagnosis was established in most probands with a clinical diagnosis of ADPKD (82.69%); VUS were identified in 8 (15.38%), and no genetic variants were detected in one proband (1.92%) in this subgroup.

Among 24 probands with clinically suspected PKD and a negative family history, a molecular diagnosis was established in 13 cases (54.17%), VUS were detected in 3 (12.50%), and no genetic variants were identified in 8 cases (33.33%). Among the three probands with unilateral PKD, one (33.33%) carried a likely pathogenic *PKD1* variant. Of the three probands with a nephronophthisis-like phenotype, two (66.67%) had diagnostic *NPHP1* variants. One proband was clinically suspected and genetically confirmed to have ARPKD, and one proband with multicystic dysplastic kidneys was classified as CAKUT, with a pathogenic *PAX2* variant identified.

Group 2 probands were subdivided into those with a positive or an inconclusive/partially positive family history (n = 8) versus those with a negative family history (n = 10). In the first subgroup, a molecular diagnosis was established in 4 cases (50%), involving *PAX2*, *HNF1B*, and *COL4A5* variants; one proband (12.50%) carried a VUS in the *PKD1* gene, and no variants were detected in 3 cases (37.50%). In the second subgroup, a molecular diagnosis was identified in 5 cases (50%), involving *PKD1*, *NPHP1*, *COL4A3*, and *TSC2* variants; one proband (10%) carried a VUS in the *UMOD* gene, while no variants were detected in 4 cases (40%).

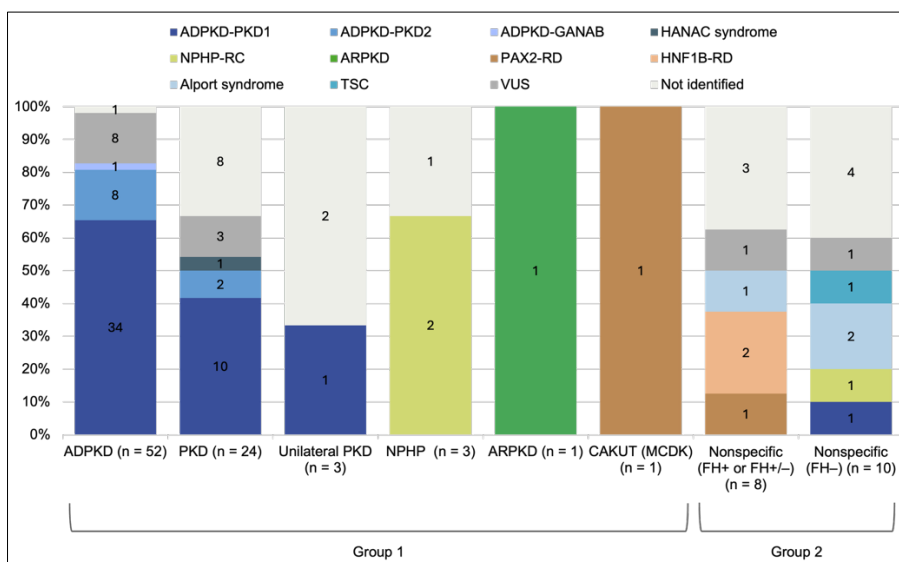


Figure 6. Distribution of genetic diagnoses among clinical subgroups.

Abbreviations: ADPKD – autosomal dominant polycystic kidney disease; ARPKD – autosomal recessive polycystic kidney disease; CAKUT – congenital anomalies of the kidneys and urinary tract; FH – family history; HANAC – hereditary angiopathy, nephropathy, aneurysms, and muscle cramps; *HNF1B*-RD – *HNF1B*-related disorder; MCDK – multicystic dysplastic kidney; NPHP – nephronophthisis; NPHP-RC – nephronophthisis-related ciliopathy; *PAX2*-RD – *PAX2*-related disorder; PKD – polycystic kidney disease; TSC – tuberous sclerosis complex.

Evaluation of the Group with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease

In this study, bilateral ADPKD-like features were identified in 86 individuals from 76 families. A clinical diagnosis of ADPKD was established in 52 families, while 24 families had PKD with a negative family history. Eleven patients in this group were children. Table 3 summarizes the demographic and clinical characteristics of adult patients with bilateral ADPKD-like features, comparing those with and without a molecularly confirmed ADPKD diagnosis.

Table 3. General characteristics of adult patients with features of bilateral autosomal dominant polycystic kidney disease

	Adult patients with features of bilateral ADPKD			<i>p</i> value
	All (n = 75)	ADPKD(+) diagnosis (n = 57)	ADPKD(−) diagnosis (n = 18)	
Female	48 (64%)	40 (70.18%)	8 (44.44%)	0.047
Male	27 (36%)	17 (29.82%)	10 (55.56%)	
Age, years	43 [34.5–52]	40 [34–51]	49.5 [38–56]	0.101
Positive family history	55 (73.33%)	46 (80.70%)	9 (50.00%)	0.01
eGFR, mL/min/1.73m ²	82 [43–95.5]	87 [44–102]	61 [41–89]	0.219
Creatinine, μmol/L	90.5 [72–143]	88 [71.5–140.5]	111 [73–139]	0.380
Urea, mmol/L	6.6 [4.85–11.05]	6.6 [4.8–9.65]	6.45 [5.25–15.35]	0.528
Uric acid, μmol/L	347 [311–425]	328 [299.5–422.5]	366 [326–438]	0.237
Right kidney length, mm	150 [132–192]	164 [138.5–197.5]	137–121.5–149]	0.018
Left kidney length, mm	167 [138–190]	170.5 [153–194]	143.5 [113.5–162.5]	0.002
Arterial hypertension	48 (64.00%)	35 (61.40%)	13 (72.22%)	0.641
Liver cysts / polycystic liver disease	55 (73.33%)	46 (80.70%)	9 (50.00%)	0.016

Abbreviations: ADPKD – autosomal dominant polycystic kidney disease; eGFR – estimated glomerular filtration rate; the sign ‘+’ indicates an established molecular diagnosis; ‘−’ indicates no molecular diagnosis identified

Females were more prevalent in the ADPKD(+) group, whereas males predominated in the ADPKD(-) group. A positive family history was significantly more common in the ADPKD(+) group. Renal function parameters were comparable between groups; however, the kidney size was significantly larger in the ADPKD(+) group for both the right and the left kidneys (see Figure 7).

The prevalence of arterial hypertension was similar between the groups; however, liver cysts or polycystic liver disease were significantly more frequent in individuals with genetically confirmed ADPKD than in the ADPKD(-) group.

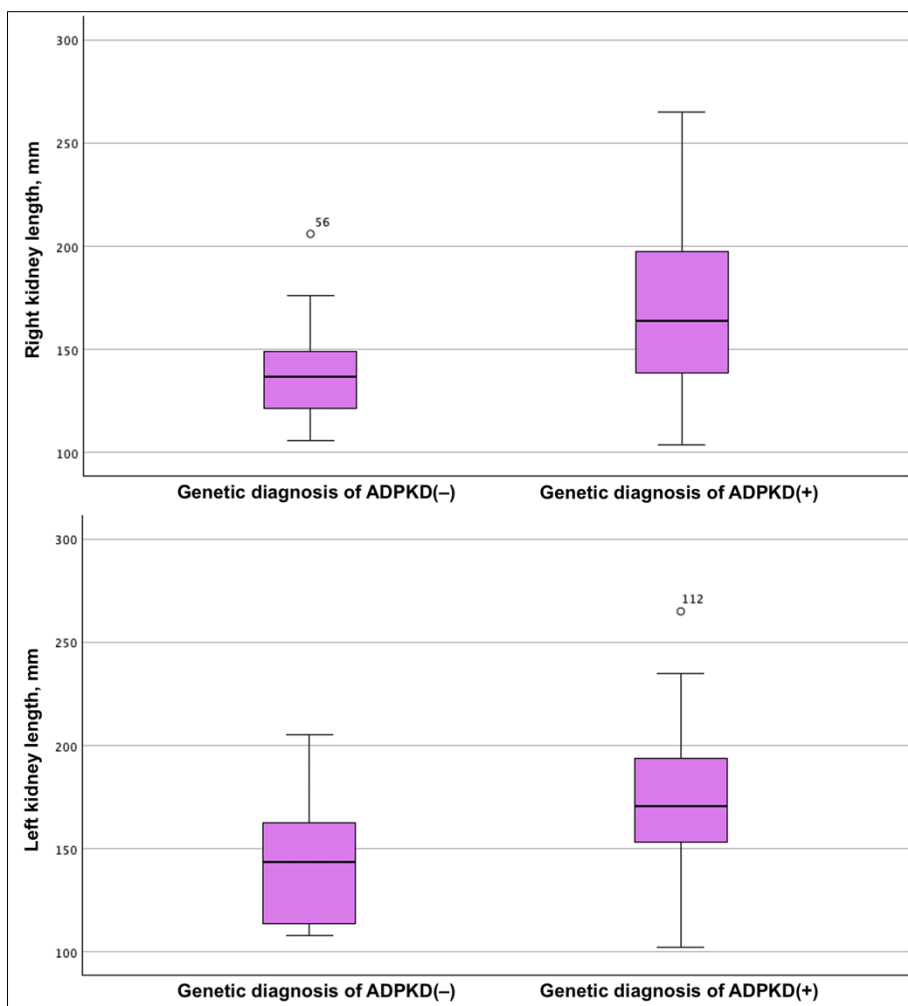


Figure 7. Distribution of kidney sizes in polycystic kidney disease groups.

Abbreviations: ADPKD – autosomal dominant polycystic kidney disease

In addition, unilateral PKD was identified in three patients, one of whom carried a likely pathogenic *PKD1* variant, c.4760G>A, p.(Arg1587His). *PKD1* variants were also detected in two patients with nonspecific cystic kidney phenotypes: a likely pathogenic variant, c.6262dup, p.(Arg2088Profs*20), and a VUS, c.11665G>T, p.(Ala3889Ser).

Evaluation of Genotypic Variants in the ADPKD Group

Variants identified in this study affected three ADPKD-associated genes (*PKD1*, *PKD2*, and *GANAB*). Of these, 19 variants were novel, 33 had been previously reported in the medical literature, and 10 were present in databases but not previously described in affected patients (see Figure 8).

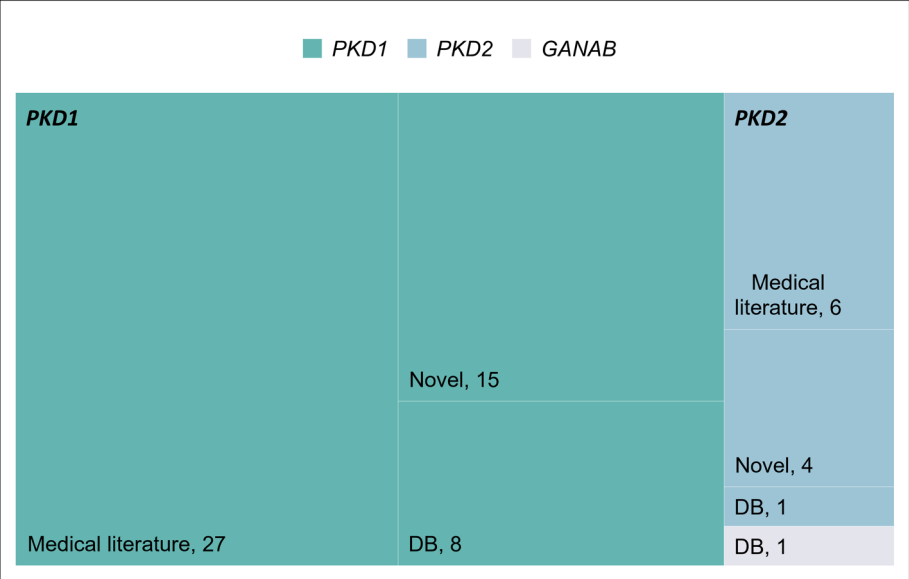


Figure 8. Distribution of novel and previously reported variants identified in the *PKD1*, *PKD2*, and *GANAB* Genes.

Abbreviation: DB – databases (ClinVar/PKDB)

All the variants identified in ADPKD-associated genes in this study are detailed in Tables 4, 5, and 6. The locations of the identified novel likely pathogenic variants are illustrated in Figure 9.

Table 4. Known pathogenic and likely pathogenic variants identified in genes associated with autosomal dominant polycystic kidney disease

Number of families	Variant	ACMG	GnomAD: general population; control group	<i>In silico</i> analysis: CADD, GERP, SIFT, Mutation Taster, SpliceAI	Variant identification number; reference
<i>PKD1</i> gene (NM_001009944.3)					
1	c.5014_5015del, p.(Arg1672Glyfs*98)	P (PVs1, PP5, PM2)	0.000006568; –	–; –; –; –; 0	rs1555455457; PMID: 17582161
2	c.12124C>T, p.(Gln4042*)	P (PVs1, PP5, PM2)	0.000001240; –	51; 3.5; –; 1; 0	rs199476094; PMID: 27535533
1	c.1198C>T, p.(Arg400*)	P (PVs1, PP5, PM2)	8.879e-7; –	35; 2.7; –; 1; 0.1	rs774453006; PMID: 25525159
1	c.11379dup, p.(Thr3794Serfs*22)	P (PVs1, PM2, PP5)	–; –	–; –; –; 1; 0	ClinVar
2	c.3719_3721del, p.(Asn1240del)	P (PP5, PM1, PM4, PM2)	0.000001861; –	–; 3.15; –; 0.99; –	rs1567202750; PMID: 12842373
2	c.9386del, p.(Gly3129Alafs*187)	LP (PVs1, PM2)	–; –	–; –; –; 1; 0	ClinVar
1	c.8095C>T, p.(Gln2699*)	P (PVs1, PP5, PM2)	6.248e-7; –	38; 4.4; –; 1; 0.2	rs1222094213; PMID: 25525159
1	c.1350del, p.(Ala451Profs*14)	LP (PVs1, PM2)	–; –	–; –; –; 1; 0.01	PKDB
1	c.8311G>A, p.(Glu2771Lys)	P (PP5, PM1, PM5, PS3, PM2, PP3)	0.000003106; –	24; 4.9; 0.011; 1; 0.05	rs1057518897; PMID: 17574468
1	c.2089C>T, p.(Gln697*)	P (PVs1, PM2, PP5)	–; –	36; 3.2; –; 1; 0	PMID: 22508176
1	c.6341A>G, p.(Tyr2114Cys)	LP (PM2, PP3, PP5)	–; –	23; 5.5; 0; 1; 0	rs2092427197; PMID: 23985799
1	c.1605A>G, p.(Gly535=)	LP (PP3, PM2, PP5)	6.558e-07; –	16; –; –; –; 0.46	PMID: 26150605
1	c.24_27dup, p.(Ala10Profs*105)	P (PVs1, PM2, PP5)	–; –	–; –; –; –; –	PMID: 38519376

Number of families	Variant	ACMG	GnomAD: general population; control group	<i>In silico</i> analysis: CADD, GERP, SIFT, Mutation Taster, SpliceAI	Variant identification number; reference
1	c.11457C>A, p.(Tyr3819*)	P (PVS1, PP5, PM2)	6.209e-7; –	41; 2.5; –; 1; 0.02	rs199476098; PMID: 19165178
1	c.8162-1G>A, p.(?)	P (PVS1, PM2, PP5)	–; –	26; 4.3; –; 0.99	rs1555451430; PMID: 27499327
2	c.8299C>T, p.(Arg2767Cys)	P (PM1, PP5, PM5, PM2)	0.00001242; –	24; 4.9; 0.001; 0.99; 0.01	rs2092203712; PMID: 23431072
1	c.9611A>G, p.(Asp3204Gly)	LP (PM1, PM5, PM2, PP5)	–; –	25; 3.7; 0; 1; 0	rs1596513913; ClinVar
1	c.6982G>T, p.(Glu2328*)	LP (PVS1, PM2)	–; –	42; 4.5; –; 0; 0.12	ClinVar
1	c.4306C>T, p.(Arg1436*)	LP (PVS1, PM2)	–; –	35; -3.2; –; 1; 0	rs1567200516; PMID: 25525159
1	c.108del, p.(Cys37Alafs*36)	LP (PVS1, PM2)	9.313e-07; –	–; –; –; 1;	rs2092941062; ClinVar
1	c.7126C>T, p.(Gln2376*)	LP (PVS1, PM2)	6.421e-07; –	51; 4.6; –; 0; 0.1	rs1555453395; PMID: 11967008
1	c.12608_12635del, p.(Arg4203Profs*146)	LP (PVS1, PM2)	6.210e-7; –	–; –; –; 1; –	PMID: 32097206
1	31–34 exon deletion				PMID: 36833371
1	c.8935_8937del, p.(Phe2979del)	LP (PM1, PM4, PM2)	6.212e-7; –	–; –; –; 0.99; 0.02	rs1358948221; PMID: 11571556
1	c.6472C>T, p.(Gln2158*)	LP (PVS1, PM2)	–; –	46; 5.5; –; 1; 0	rs2092423837; PMID: 25263802
1	c.6657_6671del, p.(Arg2220_Pro2224del)	LP (PM1, PM4, PM2)	–; –	–; –; –; –; –	PMID: 11115377
1	c.12061C>T, p.(Arg4021*)	P (PVS1, PP5, PM2)	6.201e-7; –	41; 2.3; –; 1; 0.02	rs764431330; PMID: 8911610
1	c.1660C>T, p.(Gln554*)	P (PVS1, PM2, PP5)	–; –	35; 3.3; –; 1; 0	PMID: 30816285
1	c.6367C>T, p.(Gln2123*)	P (PVS1, PP5, PM2)	–; –	36; -2.6; –; 1; 0	rs762911981; PMID: 33454723

Number of families	Variant	ACMG	GnomAD: general population; control group	<i>In silico</i> analysis: CADD, GERP, SIFT, Mutation Taster, SpliceAI	Variant identification number; reference
1	c.9592C>T, p.(Gln3198*)	P (PVSI1, PM2, PP5)	–; –	40; 4.8; –; 1; 0.01	rs1474701377; ClinVar/PKDB
1	c.11712+1G>A, p.(?)	P (PVSI1, PP5, PM2)	–; –	27; 4.0; –; 1; 0.99	PMID: 35368817
<i>PKD2</i> gene (NM_000297.4)					
2	c.916C>T, p.(Arg306*)	P (PVSI1, PP5)	0.000003718; –	38; 5.3; –; 1; 0	rs200001068; PMID: 9326320
2	c.2224C>T, p.(Arg742*)	P (PVSI1, PP5)	0.000004958; –	45; 5.0; –; 1; 0.27	PMID: 8650545
1	c.1998_2001del, p.(Phe666Leufs*7)	LP (PVSI1, PM2)	–; –	–; –; –; 0	PMID: 12707387
1	c.637C>T, p.(Arg213*)	P (PVSI1, PP5, PM2)	0.000001867; –	47; 5.9; –; 1; 0.12	rs1302726543; PMID: 17582161
1	c.1774C>T, p.(Arg592*)	P (PVSI1, PM2, PP5)	0.00000124; –	37; 4.5; –; 1; 0.01	rs1553926905; PMID: 32970388
1	c.253C>T, p.(Gln85*)	P (PVSI1, PM2, PP5)	–; –	42; 2.8; –; 0; 0.37	PMID: 17582161
<i>GANAB</i> gene (NM_198334.3)					
1	c.1786C>T, p.(Arg596Cys)	LP (PM2, PP3, PP5)	–; –	33; 5.3; 0; 1; 0	rs1565093675; ClinVar

Abbreviations: ACMG – variant pathogenicity classification criteria of the American College of Medical Genetics and Genomics; LP – likely pathogenic, P – pathogenic; gnomAD – Genome Aggregation Database.

***In silico* analysis:** CADD (<http://cadd.gs.washington.edu/>), GERP (Genomic Evolutionary Rate Profiling score), SIFT (<http://sift.jvvi.org>), Mutation Taster (<https://www.mutationtaster.org/>), and SpliceAI (<https://spliceailookup.broadinstitute.org/>)

Reference: PMID – article identification number in the PubMed database (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>); ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>); PKDB – autosomal dominant polycystic kidney disease variant database (<http://pkdb.mayo.edu>).

Table 5. Novel pathogenic and likely pathogenic variants identified in genes associated with autosomal dominant polycystic kidney disease

Number of families	Variant	ACMG	GnomAD: general population; control group	<i>In silico</i> analysis: CADD, GERP, SIFT, Mutation Taster, SpliceAI
<i>PKD1</i> gene (NM_001009944.3)				
1	c.8623A>T, p.(Lys2875*)	PVS1, PM2	–; –	48; 4.9; –; –; 0.11
1	c.11954_11955insGCCGACGTGAGCT, p.(Ala3986Argfs*3)	PVS1, PM2	–; –	–; –; –; 0.99; –
1	c.5522_5526del, p.(Val1841Glyfs*147)	PVS1, PM2	6.257e-07; –	–; –; –; –; –
1	c.1255T>C, p.(Cys419Arg)	PM1, PM2, PP3	–; –	29; 5.0; 0; 1; 0
1	c.943_955del, p.(Asp315Argfs*15)	PVS1, PM2	–; –	–; –; –; 1; –
1	c.5201_5202del, p.(Thr1734Lysfs*36)	PVS1, PM2	–; –	–; –; –; 1; 0
1	c.8017-2del, p.(?)	PVS1, PM2	–; –	–; –; –; 1; 0.96
1	c.9511G>A, p.(Ala3171Thr)	PM1, PM2, PM5, PP3	6.207e-7; –	28; 4.7; 0.019; 0.99; 0
1	c.7095del, p.(Ile2365Metfs*17)	PVS1, PM2	–; –	–; –; –; –; 0.01
1	c.6262dup, p.(Arg2088Profs*20)	PVS1, PM2	–; –	–; –; –; 1; 0
1	c.4760G>A; p.(Arg1587His)	PM1, PM5, PM2	0.000006202; –	27; 5.1; 0.27; 0.991; 0
<i>PKD2</i> gene (NM_000297.4)				
1	c.992G>T, p.(Cys331Phe)	PM1, PM2, PM5, PP3	–; –	28; 5.6; 0; 1; 0.01
1	c.2523-5_2525del, p.(?)	PVS1, PP5	–; –	–; –; –; –; 0.01

Abbreviations: ACMG – variant pathogenicity classification criteria of the American College of Medical Genetics and Genomics; LP – likely pathogenic, P – pathogenic; gnomAD – Genome Aggregation Database.
In silico analysis: CADD (<http://cadd.gs.washington.edu/>), GERP (Genomic Evolutionary Rate Profiling score), SIFT (<http://sift.jevl.org>), MutationTaster (<https://www.mutationtaster.org/>), and SpliceAI (<https://spliceailookup.broadinstitute.org/>)

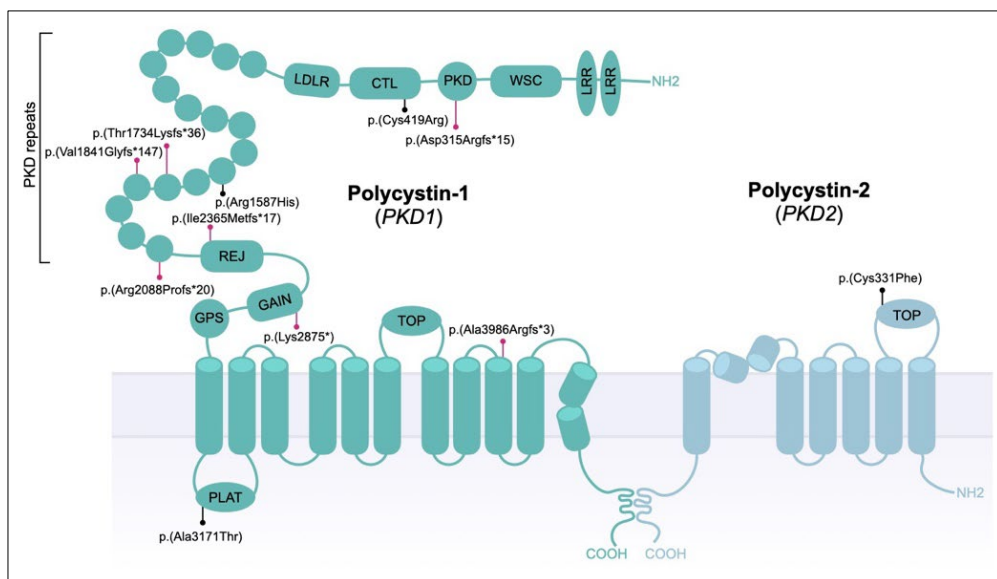


Figure 9. Two-dimensional structures of polycystin-1 and polycystin-2. Identified novel likely pathogenic variants detected in this study are indicated. Red lines indicate truncating nonsense and frameshift variants, whereas black lines indicate missense variants resulting in amino acid substitutions. Adapted from Schönauer et al., 2020 (117)

Table 6. Variants of uncertain significance identified in genes associated with autosomal dominant polycystic kidney disease

Number of families	Variant	ACMG	GnomAD: general population; control group	<i>In silico</i> analysis: CADD, GERP, SIFT, Mutation Taster, SpliceAI	Variant identification number; reference
<i>PKD1</i> gene (NM_001009944.3)					
1	c.1396G>A, p.(Val466Met)	PM1, PM2	6.335e-7; –	28; 4.8; 0.005; 1; 0.14	rs2855341; PMID: 32398770, ClinVar, PKDB
1	c.1261C>T, p.(Arg421Cys)	PM1, PM2	0.000002484; –	32; 4.1; 0.017; 1; 0.0	rs1567216536; PMID: 23985799, ClinVar
1	c.665C>A, p.(Ala222Glu)	PM5, PM1, PM2, PP3	–; –	21; 1.6; 0.007; 1; 0.01	rs1567218284; ClinVar
1	c.11665G>T, p.(Ala3889Ser)	PM1	0.0000143; –	7.4; -1.2; 0.91; –; 0.0	rs1300036375; PMID: 36573973, ClinVar
1	c.5585_5587del, p.(Phe1862del)	PM4, PM2, BP4	–; –	–; –; –; 0.0	Novel
1	c.12029_12030del, p.(Arg4010Profs*146)	PVS1, PM2	–; –	–; –; –; 1; 0.04	Novel
1	c.8378T>G, p.(Leu2793Arg)	PM1, PM2, PP3	–; –	22; 4.6; 0.0; 1; 0.0	Novel
1	c.9014A>C, p.(Gln3005Pro)	PM1, PM2	–; –	18; 2.3; 0.043; 1; 0.03	Novel
<i>PKD2</i> gene (NM_000297.4)					
2	c.843+3A>G, p.(?)	PP3, PM2	–; –	14; –; –; 0.89	ClinVar, PKDB
1	c.747_779del, p.(Thr250_Thr260del)	PP3, PM2	–; –	–; –; –; 0.99; –	Novel
1	c.595+4del, p.(?)	PP3	–; –	–; –; –; 0.82	Novel

Abbreviations: ACMG – variant pathogenicity classification criteria of the American College of Medical Genetics and Genomics; LP – likely pathogenic, P – pathogenic; gnomAD – Genome Aggregation Database.

In silico analysis: CADD (<http://cadd.gs.washington.edu/>), GERP (Genomic Evolutionary Rate Profiling score), SIFT (<http://sift.jcvi.org>), MutationTaster (<https://www.mutationtaster.org/>), and SpliceAI (<https://spliceailookup.broadinstitute.org/>).

Reference: PMID – article identification number in the PubMed database (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>); ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>); PKDB – autosomal dominant polycystic kidney disease variant database (<http://pkdb.mayo.edu>)

Several *PKD1* and *PKD2* variants formally classified as VUS showed evidence supporting likely pathogenicity.

The *PKD1* missense variant c.1396G>A, p.(Val466Met), has conflicting classifications in the literature and ClinVar (2 pathogenic, 2 likely pathogenic, and 3 VUS) in patients with polycystic kidney disease (118–120) (121), and is classified as a VUS in PKDB. In our cohort, it was identified in a 50-year-old female with polycystic kidneys and liver, and a negative family history. The variant lies within the C-type lectin domain, in which 85% of the reported variants are pathogenic according to the UniProt data.

Another *PKD1* missense variant, c.1261C>T, p.(Arg421Cys), also shows conflicting ClinVar classifications (2 pathogenic, 1 likely pathogenic, and 1 VUS) and has been reported in several patients with polycystic kidney disease (120,122,123). In this study, it was detected in a 38-year-old female with ADPKD, polycystic kidney and liver, and a positive family history.

The *PKD1* variant c.665C>A, p.(Ala222Glu), is classified as a VUS in ClinVar; however, an alternative substitution at the same residue, p.(Ala222Pro), has been reported as likely pathogenic (PMID: 32816041). This variant was identified in a 56-year-old female with clinically typical ADPKD and a positive family history.

Novel *PKD1* VUS included an in-frame deletion, c.5585_5587del, p.(Phe1862del), identified in a 50-year-old male patient with PKD, a cerebral aneurysm, and a positive family history, and a frameshift variant, c.12029_12030del, p.(Arg4010Profs*146), detected in a 51-year-old female patient with a clinical diagnosis of ADPKD. Novel missense VUS included c.8378T>G, p.(Leu2793Arg), identified in a 46-year-old female patient with polycystic kidneys and liver, and a negative family history, and c.9014A>C, p.(Gln3005Pro), detected in a 22-year-old patient with ADPKD who inherited the variant from his affected mother.

In the *PKD2* gene, the splice-site variant c.843+3A>G is reported as a VUS in ClinVar but as likely pathogenic in PKDB, and it was identified in four affected individuals from two unrelated families with PKD. Disease segregation and *in silico* splice prediction tools support its likely pathogenicity, although functional validation is required. Two additional novel *PKD2* variants – an in-frame deletion c.747_779del, p.(Thr250_Thr260del) overlapping previously reported disease-associated variants (CM173929 and CM1619843) and a splice-site variant c.595+4del, p.(?) with predicted splicing effect – were identified in patients with clinical diagnoses of ADPKD, thereby suggesting potential clinical relevance.

Summary of Clinical Features in Patients with a Genetic ADPKD Diagnosis

Clinical manifestations were summarized for 59 adult patients from 53 families with diagnostic variants in ADPKD-associated genes (see Figure 10). Liver cysts or polycystic liver disease were present in 46 patients (77.97%), including one individual who underwent liver transplantation at 46 years of age due to severe polycystic liver disease. Arterial hypertension was observed in 36 patients (61.02%), and kidney failure or prior kidney transplantation in 8 patients (13.56%), with the youngest transplanted patient being aged 36 years. Cardiovascular manifestations included left ventricular hypertrophy (10.17%), intracranial aneurysms (8.47%), and cardiac valve or vascular abnormalities (6.78%), such as Barlow disease, a bicuspid aortic valve, and dilation of the aortic root and ascending aorta; one patient underwent surgical repair of an ascending aortic aneurysm with aortic valve replacement at the age of 29 years. However, fewer than a half of the cohort underwent systematic evaluation for these complications. One patient presented with unilateral polycystic kidney disease.

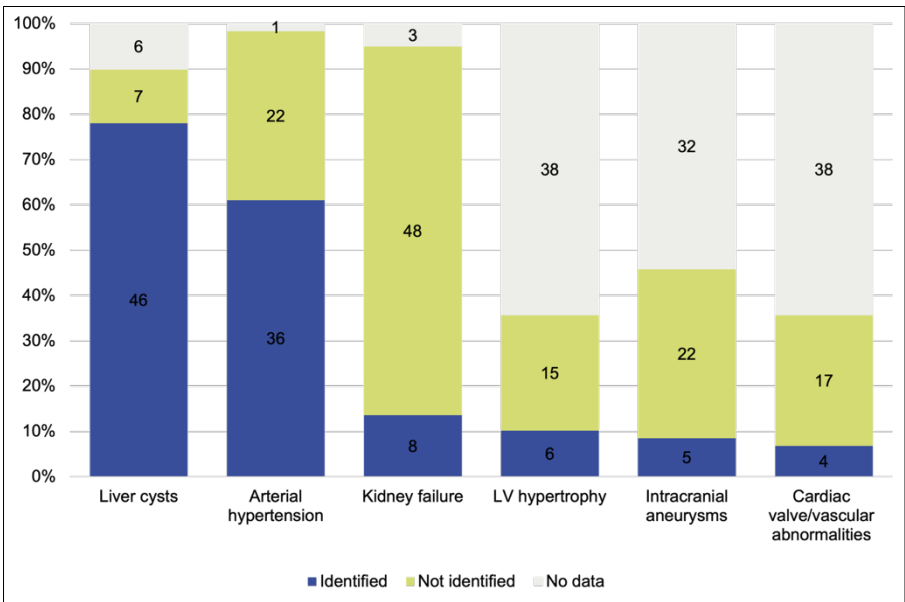


Figure 10. Frequency of major phenotypic features in the autosomal dominant polycystic kidney disease group.

Abbreviation: LV – left ventricle

A more detailed distribution of CKD stages in the ADPKD group is shown in Figure 11. In more than a half of adult patients with ADPKD, the kidney function was normal or only mildly to moderately reduced.

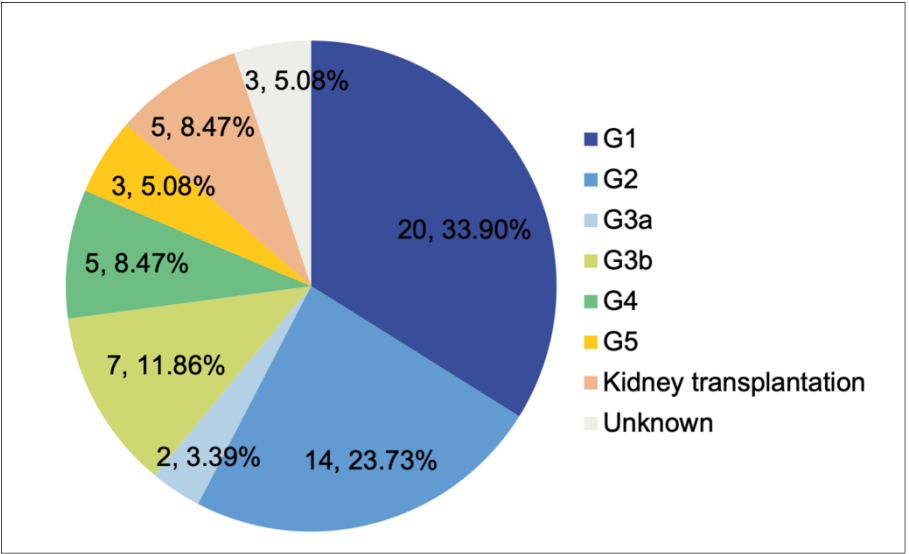


Figure 11. Distribution of chronic kidney disease stages among adult patients with autosomal dominant polycystic kidney disease

Evaluation of the Impact of *PKD1*/*PKD2* Gene Variants on the Phenotype

In this study, 50 distinct *PKD1* gene variants were identified in 54 families. Of these, 42 variants detected in 46 families were considered diagnostic. In the *PKD2* gene, 11 distinct variants were identified in 14 families, of which, 8 variants detected in 10 families were considered diagnostic. The distribution of variant types across families is shown in Figure 12.



Figure 12. Distribution of identified *PKD1* and *PKD2* gene variant types across families.

Abbreviation: VUS – variant of uncertain significance

The distribution of the identified variants indicates that *PKD1* gene variants accounted for most cases and showed a greater diversity in the variant types compared to the *PKD2* gene. In *PKD1*, nonsense and frameshift variants were most frequent, thereby suggesting that most variants are truncating and are therefore likely to result in a loss of the protein function. In contrast, *PKD2* variants were predominantly nonsense, with other variant types being rare or absent.

All *PKD1* and *PKD2* gene variants identified in this study are shown in Figures 13 and 14, according to their potential truncating effects.

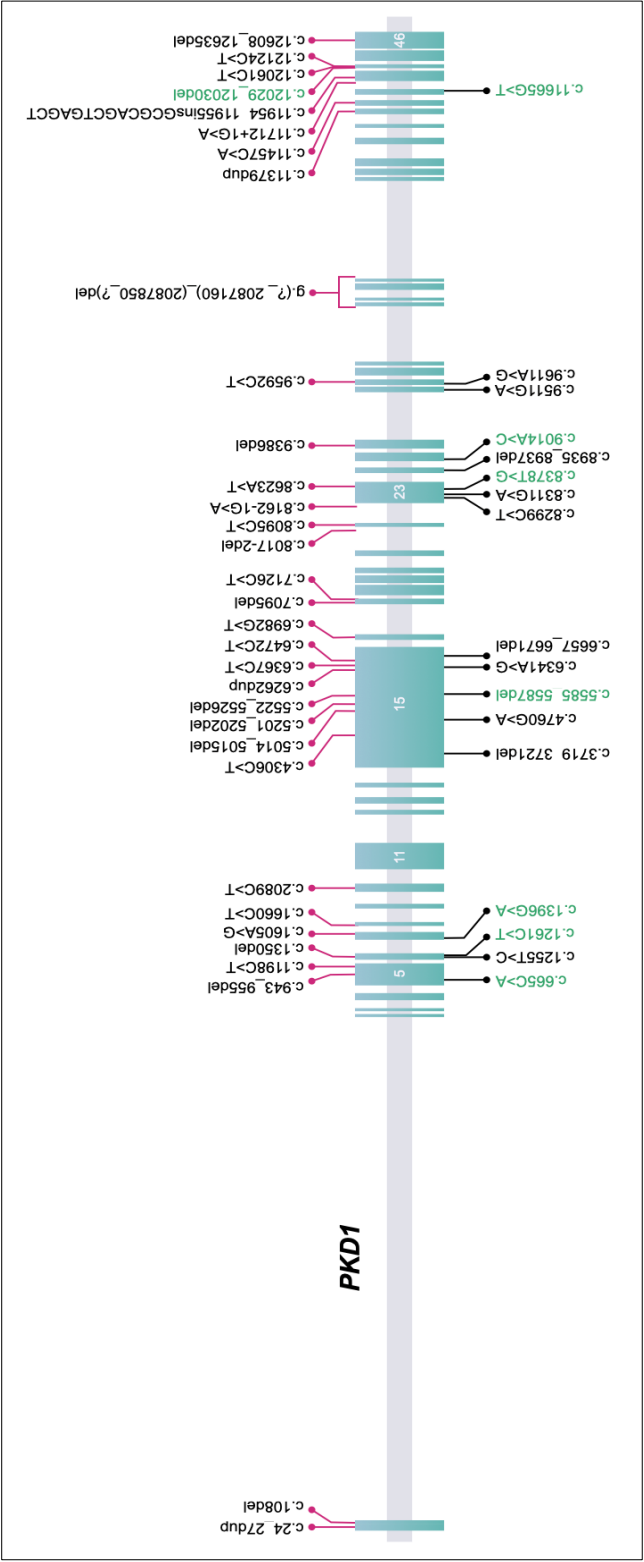


Figure 13. Schematic representation of the *PKD1* gene with variants identified in this study. Red lines indicate truncating variants; black lines indicate non-truncating variants. Pathogenic and likely pathogenic variants are shown in black; variants of uncertain significance are shown in green. The *PKD1* gene schematic visualization was obtained from the UCSC Genome Browser (hg19)

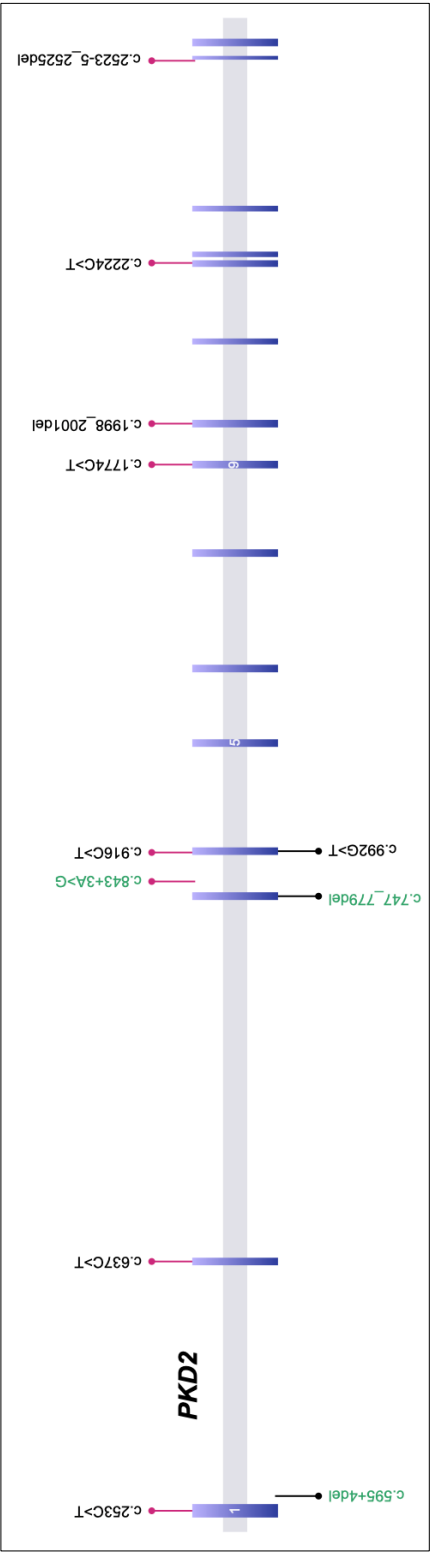


Figure 14. Schematic representation of the *PKD2* gene with variants identified in this study. Red lines indicate truncating variants; black lines indicate non-truncating variants. Pathogenic and likely pathogenic variants are shown in black; variants of uncertain significance are shown in green. The *PKD2* gene schematic visualization was obtained from the UCSC Genome Browser (hg19)

Table 7 summarizes data from 57 adult patients with diagnostic *PKD1/PKD2* variants classified as truncating or non-truncating. No statistically significant differences were observed between the groups across the evaluated parameters. Given the potential influence of age on disease progression, analyses were additionally adjusted for age; after adjustment, differences remained nonsignificant for nearly all parameters.

Significant differences were observed only in the kidney size: after age adjustment, the left kidney length was significantly greater in the truncating variant group than in the non-truncating group, which suggests more pronounced kidney enlargement in younger patients with truncating variants.

Table 7. Comparison of phenotypes between patients with truncating and non-truncating pathogenic/likely pathogenic variants in the *PKD1/PKD2* genes

	Truncating variants (n = 47)	Non-truncating variants (n = 10)	<i>p</i> value	<i>p</i> value (age- adjusted)
Age, years	37 [30–50]	49 [40–51]	0.104	–
eGFR, mL/min/1.73m ²	87 [44–94]	75.5 [44.5–107.5]	0.905	0.414
Creatinine, µmol/L	85 [71–134]	96 [76–154]	0.595	0.786
Urea, mmol/L	5.9 [4.8–10.7]	7.5 [4.8–8.6]	0.785	0.486
Uric acid, µmol/L	328 [294–420]	350.5 [319–443]	0.747	0.914
CKD stage G4–5	10 (21.28%)	3 (30.00%)	0.409	0.883
Right kidney length, mm	163.5 [139–195]	165.5 [130–209]	0.917	0.277
Left kidney length, mm	179 [153.5–197]	159.5 [120–167]	0.132	0.019
Arterial hypertension	29 (61.70%)	6 (60.00%)	0.920	0.345
Liver cysts or polycystic liver disease	38 (80.85%)	8 (80.00%)	0.951	0.732

Abbreviations: CKD – chronic kidney disease; eGFR – estimated glomerular filtration rate

Table 8 compares phenotypic characteristics by the affected gene (*PKD1* vs. *PKD2*). The renal function was more impaired in the *PKD1* group, with higher serum creatinine and lower eGFR; these differences became more pronounced after age adjustment. After adjustment, serum uric acid levels were also significantly higher in the *PKD1* group, while serum urea levels did not differ significantly. The kidney size was comparable between the groups, although the left kidney length approached statistical significance after age adjustment, which suggests milder kidney enlargement in *PKD2*. After age adjustment, arterial hypertension was more prevalent in the *PKD1* group.

Table 8. Comparison of phenotypes between patients with pathogenic and likely pathogenic *PKD1* and *PKD2* gene variants

	<i>PKD1</i> gene (n = 46)	<i>PKD2</i> gene (n = 11)	<i>p</i> value	<i>p</i> value (age- adjusted)
Age, years	39 [31–50]	42 [36–53.5]	0.470	–
eGFR, mL/min/1.73m ²	85 [43.5–98]	90 [69–105]	0.397	0.029
Creatinine, µmol/L	93.5 [76.5–148]	72 [65.5–80.5]	0.038	0.005
Urea, mmol/L	6.6 [4.9–10.7]	5.45 [4.5–7.7]	0.370	0.083
Uric acid, µmol/L	347 [314–434.5]	306.5 [244.5–342.5]	0.053	0.034
CKD stage G4–5	11 (23.91%)	2 (18.18%)	0.16	0.364
Right kidney length, mm	139 [165–200]	152 [132–189]	0.408	0.305
Left kidney length, mm	182 [156–200]	160 [145–168.5]	0.094	0.051
Arterial hypertension	31 (67.39%)	4 (36.36%)	0.061	0.025
Liver cysts or polycystic liver disease	37 (80.43%)	9 (81.82%)	0.917	0.997

Abbreviations: CKD – chronic kidney disease; eGFR – estimated glomerular filtration rate

Characterization of Non-ADPKD Genotypes and Clinical Variants

Overall, other than ADPKD, molecular diagnosis was established in 15 patients from 13 families. Clinical features were summarized for 13 adult patients from 11 families (see Table 9, Figure 15). Most patients presented with multiple kidney cysts without a specific cystic kidney disease phenotype, while only a few had clinically established NPHP-like or ARPKD-like features. In one patient, PKD was initially suspected based on the kidney phenotype; however, genetic testing revealed HANAC syndrome.

In this study group, 11 distinct diagnostic variants were identified across 7 genes, of which, 4 were novel (see Table 10).

Table 9. General characteristics of adult patients with non-ADPKD diagnoses

	Adult patients (n = 13)
Female	4 (30.77%)
Male	9 (69.23%)
Age, years	43 [26–61]
eGFR, mL/min/1.73m ²	63.5 [30–95]
Creatinine, µmol/L	104.5 [74–212]
Urea, mmol/L	8.5 [5.6–20.45]
Uric acid, µmol/L	402 [371–426]
Right kidney length, mm	110 [94–111]
Left kidney length, mm	105 [100–111]

Abbreviation: eGFR – estimated glomerular filtration rate

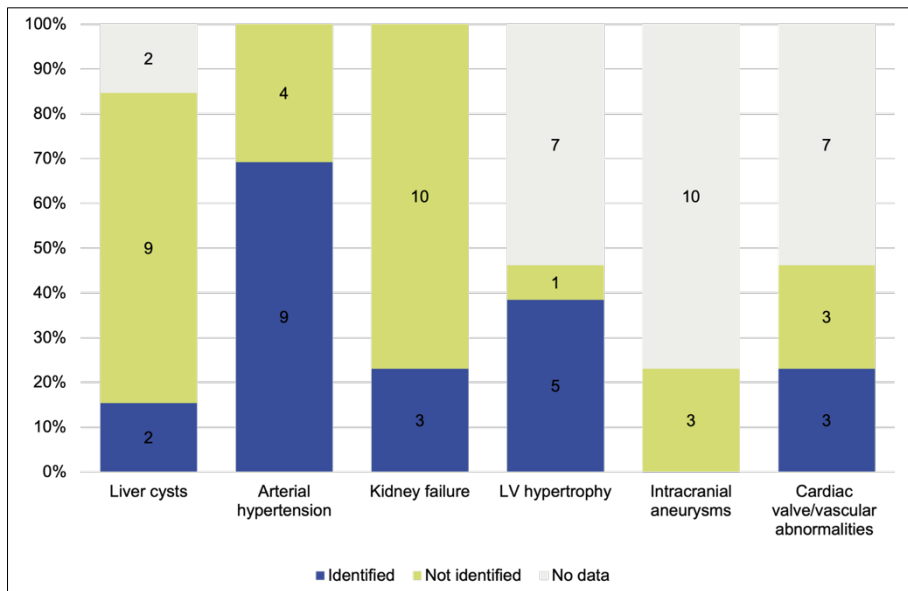


Figure 15. Frequency of major phenotypic features in adult patients with a diagnosis other than autosomal dominant polycystic kidney disease

A more detailed distribution of CKD stages in the non-ADPKD group is shown in Figure 16. Severe renal dysfunction or kidney failure was present in nearly half of the patients, including three who had undergone kidney transplantation due to NPHP-RC.

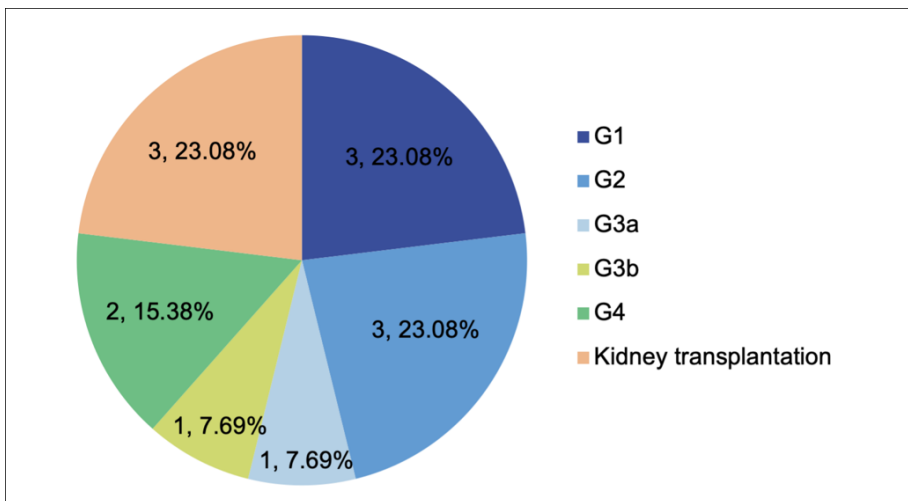


Figure 16. Distribution of chronic kidney disease stages among adult patients with a diagnosis other than autosomal dominant polycystic kidney disease

Table 10. Diagnostic variants identified in genes associated with diagnoses other than autosomal dominant polycystic kidney disease

Number of families	Variant	Genotype	ACMG	GnomAD: general population; control group	<i>In silico</i> analysis: CADD, GERP, SIFT, Mutation Taster, SpliceAI	Variant identification number; reference
<i>PAX2</i> gene (NM_000278.5)						
1	c.685C>T, p.(Arg229*)	htz	P (pVSI, PP5, PM2)	–; –	37; -1.7; –; 1; 0	rs76492282; PMID: 23539225
1	c.250G>A, p.(Gly84Ser)	htz	P (PP3, PP5, PM1, PM2)	–; –	33; 5.9; 0; 1; 0	rs2133836340; PMID: 22213154
<i>HNF1B</i> gene (NM_000458.4)						
1	c.478dup, p.(Met160Asnfs*62)	htz	LP (pVSI, PM2)	–; –	–; –; –; 0.01	Novel
1	arr[GRCCh38] 17q12(36409857_37902763)×1)	htz	–	–	–	PMID: 26160100
<i>NPHP1</i> gene (NM_001128178.3)						
2	Whole gene deletion	hmz	–	–	–	PMID: 8852662
1	Whole gene deletion	htz	–	–	–	
	c.1471C>T, p.(Gln491*)	htz	LP (pVSI, PM2)	6.197e-7	40; 6.1; –; 1; 0	Novel
<i>TSC2</i> gene (NM_000548.5)						
1	c.4857C>G, p.(Phe1619Leu)	htz	LP (PP3, PM1, PM5, PM2)	–; –	23; -1.3; 0.003; –; 0	Clin Var
<i>COL4A5</i> gene (NM_033380.3)						
3	c.1871G>A, p.(Gly624Asp)	hmi	P (PP5, PM5, PM1)	0.00004629; 0.00008996	25; 5.1; 0.021; 1; 0.05	rs104886142; PMID: 17396119

Number of families	Variant	Genotype	ACMG	GnomAD: general population; control group	<i>In silico</i> analysis: CADD, GERP, SIFT, Mutation Taster, SpliceAI	Variant identification number; reference
<i>COL4A1</i> gene (NM_001845.6)						
1	c.413del, p.(Pro138Leufs*18)	htz	LP (PV/S1, PM2)	–; –	–; –; 1; 0.05	Novel
<i>PKHD1</i> gene (NM_138694.4)						
1	c.7372G>A, p.(Gly2458Arg)	htz	LP (PM2, PP3)	0.000002484; –	26; 5.8; 0; 0.998; 0.04	Novel
	c.8518C>T, p.(Arg2840Cys)	htz	P (PP5, PM5, PM1, PM2, BP4)	0.00003957; –	26; 4.8; 0.06; –; 0	rs200432861; PMID: 15805161

Abbreviations: Genotype: hmi – hemizygous; hnz – homozygous; htz – heterozygous.

ACMG – variant pathogenicity classification criteria of the American College of Medical Genetics and Genomics; LP – likely pathogenic; P – pathogenic; gnomAD – Genome Aggregation Database.

In silico analysis: CADD (<http://cadd.gs.washington.edu/>), GERP (Genomic Evolutionary Rate Profiling score), SIFT (<http://sift.jevl.org>), MutationTaster (<https://www.mutationtaster.org/>), and SpliceAI (<https://spliceailookup.broadinstitute.org/>).

Reference: PMID – article identification number in the PubMed database (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>); ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>)

PAX2-Related Disorder

A male patient was diagnosed with bilateral multicystic kidney dysplasia at 11 years of age, with a serum creatinine level of 90 $\mu\text{mol/L}$. By age 27, he had progressed to CKD stage G3a with proteinuria and glucosuria. Imaging revealed bilateral cystic kidneys (described as multicystic dysplastic kidneys or polycystic kidneys) with reduced parenchymal thickness and irregular contours. Family history included kidney disease in the paternal grandmother, who died at 28 years of age. NGS analysis identified a heterozygous pathogenic *PAX2* variant c.685C>T, p.(Arg229*). Given the known association between *PAX2* variants and ocular abnormalities, ophthalmological evaluation revealed bilateral optic nerve dysplasia with preserved visual function.

In the second family, a 6-year-old girl was diagnosed with bilateral renal hypoplasia at birth and developed arterial hypertension and impaired renal function in early infancy. Imaging showed signs of CKD with microcalcifications and small parenchymal cysts. Family history was consistent with autosomal dominant inheritance: her younger sister also had bilateral renal hypoplasia, and their father had CKD stage G3b with proteinuria, hypertension, focal segmental glomerulosclerosis on biopsy, and optic disc pits. NGS and segregation analysis identified a heterozygous pathogenic *PAX2* variant c.250G>A, p.(Gly84Ser) in both daughters and their father.

HNF1B-Related Disorder

A 43-year-old female had kidney cysts since age 23, accompanied by muscle cramps, hypomagnesemia, and mildly reduced renal function. Ultrasonography showed renal cysts with reduced parenchymal echogenicity and a normal kidney size. Proteinuria was noted during pregnancy, and fetal hyperechogenic kidneys were observed in two pregnancies. NGS identified a heterozygous likely pathogenic *HNF1B* frameshift variant (c.478dup, p.(Met160Asnfs*62), which has not been previously reported in the literature.

For segregation analysis, the patient's 33-year-old sister was evaluated; prior abdominal magnetic resonance imaging revealed bilateral renal cysts and parenchymal pancreatic changes, interpreted as an anatomical variant or secondary to pancreatic atrophy following pancreatitis. However, the patient had no history of pancreatitis and no other chronic diseases. Sanger sequencing confirmed the same familial *HNF1B* gene variant.

In another 43-year-old female, multiple renal cysts and calcifications were first identified at age 22 during hospitalization for a urinary tract infection. At 43 years, renal ultrasonography showed bilateral parenchymal cysts with calcifications and small calculi, while abdominal computed tomography revealed no extrarenal abnormalities. The renal function was preserved, and no other chronic conditions were present. One patient's son was diagnosed with cystic nephropathy shortly after birth; he was born preterm and exhibited delayed psychomotor development. NGS analysis suggested a heterozygous whole-gene *HNF1B* deletion, which was confirmed by SNP microarray as a 1.484 Mb deletion in the 17q12 chromosomal region, encompassing the disease-associated genes *ACACA*, *HNF1B*, *PIGW*, and *ZNHIT3*.

Nephronophthisis-Related Ciliopathies

A 25-year-old female was referred for genetic counseling because of suspected hereditary thrombotic angiopathy or another genetic kidney disease. Hypertension and CKD were detected at 6 years of age. Kidney biopsy showed tubulointerstitial nephritis, and renal ultrasonography revealed multiple cysts (polycystic kidneys). Hemodialysis was initiated at 7 years, followed by kidney transplantation; however, by 20 years of age, four grafts had failed due to vascular thrombosis. Echocardiography showed mild left ventricular hypertrophy, and mild myopia had been present since childhood. Family history was negative. NGS suggested a homozygous *NPHP1* gene deletion, which was confirmed by MLPA.

A 21-year-old male was diagnosed with polycystic renal degeneration at birth and progressed to end-stage CKD, requiring kidney transplantation at 11 years of age. At 18 years, ophthalmological examination revealed foveal hypoplasia, and Senior-Løken syndrome was suspected. Pedigree analysis suggested autosomal recessive inheritance. His younger brother had early-onset visual impairment and was later clinically diagnosed with juvenile nephronophthisis and retinal dystrophy. NGS identified a novel heterozygous likely pathogenic *NPHP1* variant c.1471C>T, p.(Gln491*), and a heterozygous *NPHP1* deletion was suspected and confirmed by MLPA. Segregation analysis identified the same genotype in the patient's brother, while both parents were carriers.

A 26-year-old male was diagnosed with juvenile nephronophthisis at 10 years of age and required hemodialysis, followed by cadaveric kidney transplantation at 11 years. Imaging showed diffuse renal damage with a reduced kidney size, compressed collecting systems, and hyperechogenic

renal parenchyma. Severe acute graft rejection occurred at 18 years, and hemodialysis was resumed at 23 years before a second kidney transplantation at 26 years. The patient also had arterial hypertension with hypertensive heart disease and progressive visual impairment; ophthalmological examination revealed myopia, astigmatism, and optic disc abnormalities with peripapillary degeneration. The family history was negative. NGS suggested a homozygous *NPHP1* deletion, which was confirmed by MLPA.

Tuberous Sclerosis Complex

A 61-year-old male was evaluated for multiple renal cysts. Ultrasonography showed bilateral parenchymal cysts with a normal kidney size and smooth contours. Diverticulosis of the descending and sigmoid colon was also identified. Since the age of 28 years, the patient had pharmacoresistant cryptogenic epilepsy with nonspecific white matter changes on brain magnetic resonance imaging. The patient also had a congenital bicuspid aortic valve, arterial hypertension, and left ventricular hypertrophy. The renal function was preserved, and the family history was negative. NGS identified a heterozygous likely pathogenic *TSC2* missense variant c.4857C>G, p.(Phe1619Leu).

Alport Syndrome

A 67-year-old male had been suspected of having a renal pathology since the age of 20 years based on ultrasonographic findings and developed arterial hypertension from approximately 47 years of age. At 55 and 57 years of age, he was evaluated for persistent microscopic hematuria, and chronic cystitis was diagnosed histologically. At 66 years of age, audiological examination revealed bilateral sensorineural hearing loss with tympanosclerosis. By 67 years of age, the patient had CKD stage G4 with persistent microscopic hematuria and proteinuria. Abdominal computed tomography demonstrated cysts in the kidneys as well as in the liver, with a normal liver size and smooth contours. The family history was negative. NGS identified a hemizygous pathogenic *COL4A5* variant c.1871G>A, p.(Gly624Asp).

A 62-year-old male was referred for genetic consultation because of a suspected hereditary kidney disease. At 57 years of age, routine testing revealed proteinuria, microscopic hematuria, and kidney cysts. Abdominal computed tomography showed multiple bilateral renal cysts with a normal kidney size and no liver cysts. A kidney biopsy demonstrated glomerular hypertrophy with a thin glomerular basement membrane phenotype. The patient had CKD stage G2 and arterial hypertension, and the family history

was negative. NGS identified a hemizygous pathogenic *COL4A5* variant c.1871G>A, p.(Gly624Asp).

A 76-year-old male had a 30-year history of renal cysts, persistent microscopic hematuria, and arterial hypertension. At evaluation, he had CKD stage G4 with hematuria and glucosuria. Ultrasonography demonstrated bilateral cystic renal changes with smooth contours, as well as hepatic cysts. Bilateral sensorineural hearing loss had been present since 35 years of age. The family history was notable for liver cysts in the patient's mother and childhood-onset hearing impairment in his son. NGS identified a hemizygous pathogenic *COL4A5* variant c.1871G>A, p.(Gly624Asp).

HANAC Syndrome

A 61-year-old male was evaluated for a suspected polycystic kidney disease, with a history of nocturia since early adulthood and arterial hypertension from 44 years of age. Kidney cysts were detected at 56–57 years of age, accompanied with mild renal dysfunction and erythrocyturia. Ultrasonography demonstrated a polycystic renal pattern with bilaterally enlarged kidneys. The family history was negative.

NGS identified a novel heterozygous likely pathogenic *COL4A1* variant c.413del, p.(Pro138Leufs*18). Following the genetic findings, additional clinical evaluations were performed, which revealed marked retinal vessel tortuosity on ophthalmological examination, and vascular leukoencephalopathy with chronic lacunar ischemic lesions and multiple cerebral microhemorrhages in the pons, cerebellum, medulla oblongata, and basal ganglia on brain magnetic resonance imaging.

Autosomal Recessive Polycystic Kidney Disease

The patient was a 1.5-month-old girl. Renal ultrasonography identified bilateral pelvic dilation and multiple parenchymal cysts consistent with the ARPKD phenotype. The liver was normal in size, with a small number of cysts and focal intrahepatic bile duct dilation. The renal function and arterial blood pressure were within normal limits, and the family history was negative.

NGS revealed compound heterozygosity in *PKHD1*, comprising a pathogenic variant c.8518C>T, p.(Arg2840Cys), and a novel likely pathogenic variant c.7372G>A, p.(Gly2458Arg), confirmed to be in *trans* by segregation analysis.

DISCUSSION

Cystic kidney diseases comprise a genetically heterogeneous group with variable renal and extrarenal manifestations. In this cohort, which included both well-defined and nonspecific cystic phenotypes, a genetic diagnosis was established in most cases, likely reflecting the appropriate patient selection and accurate recognition of common cystic phenotypes, particularly in those with a positive family history. The overall diagnostic yield in this cohort was 68.63% across all families and 82.69% among those with a clinically established ADPKD diagnosis; in patients with clinically diagnosed ADPKD or bilateral polycystic kidney disease without a positive family history, the yield was 73.68%. High diagnostic yields have been reported in other studies. Bullich et al. identified disease-causing variants in 78% of patients with a suspected hereditary cystic kidney disease, with targeted NGS gene panel confirming the clinical diagnosis in 62% of the cases, establishing a new diagnosis in 14%, and revising a previous diagnosis in 2% (10). In the present study, genetic testing confirmed the clinical diagnosis in 58.8% of the cases, established a new diagnosis in 8.82%, and altered the initially suspected diagnosis in 0.98%. Similarly, a molecular diagnosis was reported in 83% of families in another cystic kidney disease cohort (5). In a Taiwanese ADPKD cohort, disease-causing variants were detected in 68.9% of the patients, involving *PKD1*, *PKD2*, *PKHD1*, *GANAB*, and *ALG8* (127). In our ADPKD group, variants in *PKHD1* and *ALG8* were not identified, while a *GANAB* variant was detected in one patient.

More than a decade ago, Gee et al. demonstrated that whole-exome sequencing can facilitate the identification of phenocopies of cystic kidney diseases in cases where clinical evaluation – including renal ultrasonography or even histological examination – fails to establish an accurate diagnosis (128). Although whole-exome sequencing was not performed in this study, the applied gene panel included all genes implicated in the study by Gee et al. Multiple bilateral kidney cysts, which are often extensive and clinically mimicking ADPKD, have also been described in adult patients with Alport syndrome caused by pathogenic variants in *COL4A3*–*COL4A5* (91–93). In this study, multiple kidney cysts were observed in three older patients with Alport syndrome, and in one patient, a *COL4A1* variant caused a phenotype resembling polycystic kidney disease. Similar cases have been reported by other authors, emphasizing that precise genomic testing is essential to avoid misdiagnosis in patients presenting with multiple kidney cysts (25,92,129).

In this study, structural genomic variants were identified in five patients. Although they accounted for a small proportion of all detected variants, these

large DNA alterations are clinically significant, as they often result in a loss of the gene function and contribute to the genetic heterogeneity of inherited kidney diseases alongside single-nucleotide variants. Large multi-exon deletions of *PKD1* represent a relatively rare cause of ADPKD; they are reported in approximately 1.6–7.1% of affected individuals (130). In this study, a deletion encompassing exons 31–34 of *PKD1* accounted for 1.85% of ADPKD cases. In contrast, a suspected duplication of exon 1 of *PKD1* in one proband was not validated by an alternative method, thereby indicating that some NGS-detected structural variants may be false-positive and underscoring the need for confirmatory testing, particularly in *PKD1* analyses. Structural variants affecting other genes were validated in all cases, with no false-positive NGS results observed. Sequencing of *PKD1* is technically challenging because of a high sequence homology between its first 33 exons and six pseudogenes (131). Long-range PCR with Sanger sequencing has been long considered the most reliable approach, but it is labor-intensive and unsuitable for large-scale diagnostics (133). Standard short-read whole-genome sequencing has emerged as a viable alternative, providing uniform *PKD1* coverage and enabling detection of single-nucleotide variants, indels, and copy number variants, with reported diagnostic yields of up to 86% in ADPKD cohorts (134). In the future, long-read sequencing may become a new diagnostic standard, as it overcomes pseudogene-related challenges and has already shown higher diagnostic yield compared with other methods (135).

In this study, patients with specific and nonspecific kidney cyst phenotypes showed differences in the distribution of molecular diagnoses, although both ADPKD and nephronophthisis-related ciliopathies were identified in each group. While the renal function parameters did not differ significantly, patients with specific phenotypes had larger kidneys and more frequent liver cysts or polycystic liver disease, likely reflecting the high prevalence of ADPKD in this group.

Among patients with bilateral polycystic kidney disease, those with a genetically confirmed ADPKD more often had a positive family history, larger kidneys, and a higher prevalence of liver cysts or polycystic liver disease. These findings suggest that, in patients without an identified ADPKD diagnosis, atypical disease manifestations may be caused by other, yet unidentified genetic factors, or that the current diagnostic methods remain insufficient to detect all pathogenic variants in known genes.

Although ADPKD is a well-characterized disorder, the families included in this study illustrate its broad phenotypic spectrum, ranging from isolated cases with a stable renal function to severe extrarenal manifestations. Severe

polycystic liver disease, a rare complication occurring in approximately 3% of patients (136), was observed in one individual who required liver transplantation. Aortic aneurysm, another uncommon but clinically significant manifestation, required surgical intervention in one young patient. Sung et al. reported a prevalence of aortic dilatation of approximately 1% in ADPKD patients, with acute aortic dissection occurring in 58% of these cases. Compared with unaffected individuals, ADPKD patients had a 5.49-fold increased risk of aortic aneurysm and dissection, rising to 46.69-fold in the presence of arterial hypertension (53). A meta-analysis conducted in 2022 advised cautious interpretation of these findings due to potential a study bias but nonetheless supported consideration of this association in clinical practice (137). In the present study, only a small proportion of patients underwent aortic evaluation, which likely reflects a younger age at assessment and the absence of standardized national screening guidelines. However, the first KDIGO Clinical Practice Guideline for the Evaluation, Management, and Treatment of ADPKD was published in 2025 and recommends aortic assessment when there is a family history of aortic aneurysm or dissection (138). This may lead to an increased awareness and more systematic evaluation of such complications in the future.

The clinical course of ADPKD is known to depend in part on the underlying genetic variant. Longitudinal studies have shown poorer renal survival in patients with *PKD1* variants compared with *PKD2* variants, with end-stage kidney disease occurring approximately 20 years later in the latter group, and more severe outcomes associated with truncating *PKD1* variants (24). Consistently, the mean age at onset of end-stage CKD has been reported as 57.5 years for *PKD1* and 70 years for *PKD2* variant carriers (139). In the present study, most clinical and biochemical parameters did not differ significantly between the patients with truncating and non-truncating *PKD1/PKD2* variants; however, after age adjustment, the kidney size was greater in patients with truncating variants, which suggests earlier cyst progression. As this was not a longitudinal study, possibility of direct comparison with previous reports is limited.

When comparing *PKD1* and *PKD2* variants, patients with pathogenic or likely pathogenic *PKD1* variants showed more severe renal impairment, and a higher prevalence of arterial hypertension than those with *PKD2* variants, thus supporting the established association of *PKD1* with a more severe ADPKD phenotype and an earlier disease progression.

Although ADPKD accounted for most diagnoses, rarer conditions provided valuable insights into the phenotypic and genetic heterogeneity of cystic kidney diseases. The *PAX2* variant c.685C>T, p.(Arg229*), identified in this study, has previously been reported in a child with bilateral renal hypodysplasia and CKD stage G5 (89). In contrast, our patient presented with childhood-onset cystic kidney disease, CKD stage G3a in adulthood, and bilateral optic nerve dysplasia. In a prenatal CAKUT case series, the same variant was described in a fetus with bilateral hyperechogenic kidneys, hypoplasia with cortical microcysts, and focal retinal dysplasia (126). The variant has also been mentioned in a Chinese cohort study, although individual clinical details were not provided (140). Another *PAX2* variant, c.250G>A, p.(Gly84Ser), was previously reported in a child with nystagmus and later bilateral optic nerve colobomas with pits, without clinically apparent kidney disease in the proband or affected family members (125). In our study, optic disc pits were also observed, but kidney disease was the predominant feature affecting both children and the father. These supports Yang's et al.'s suggestion that missense variants are more likely to cause nephrosis than CAKUT (89).

More than 230 *HNF1B* variants have been reported, with most of them being located in the first four exons; they include missense, nonsense, frameshift, and splice-site variants (86). The novel likely pathogenic variant c.478dup, p.(Met160Asnfs*62), identified in this study, lies within this region. Kidney cysts, prenatally detected hyperechogenic kidneys, and hypomagnesemia – which are features consistent with *HNF1B*-related disorder – were observed in the studied families. Approximately 50% of the patients develop MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young), around 30% exhibit pancreatic atrophy, and neurological manifestations are more likely in cases with a 17q12 microdeletion (83). None of the three patients in this study had diabetes at evaluation; pancreatic atrophy was suspected in one case, and no neurological manifestations were observed in the patient with a 17q12 microdeletion. Heterozygous pathogenic *HNF1B* variants represent one of the most common genetic causes of congenital anomalies of organ development, accounting for up to 10–15%, particularly kidney anomalies, in prenatal and pediatric populations (10).

Among nephronophthisis-related ciliopathies, approximately 45% present as isolated nephronophthisis, while Senior-Løken syndrome is the most common syndromic form, accounting for up to 35% of all cases (67,141). In this study, nephronophthisis-related ciliopathy was diagnosed in three families: two with a defined clinical diagnosis, including one suspected Senior-Løken syndrome, and one without a specific clinical diagnosis. All

affected individuals carried *NPHP1* deletions, which were homozygous in two families and heterozygous in one family in combination with a novel likely pathogenic variant c.1471C>T, p.(Gln491*). Homozygous *NPHP1* deletions account for approximately 20–25% of nephronophthisis cases, while biallelic pathogenic *NPHP1* variants are responsible for about a half of nephronophthisis-related ciliopathies (67).

Multiple kidney cysts have been reported in Alport syndrome, especially in cases with late-onset renal failure and minimal or absent hearing impairment, thus complicating clinical diagnosis (74). In this study, three patients carried the same *COL4A5* variant c.1871G>A, p.(Gly624Asp), a common missense variant occurring in Central and Eastern Europe associated with a mild X-linked Alport phenotype and renal failure in mid-adulthood (143). Consistent with previous reports, renal impairment in our patients developed later in life, hearing loss was absent in one case, and molecular diagnosis with determination of inheritance enabled targeted genetic counseling for at-risk family members.

Pathogenic *COL4A1* variants cause multisystem disease, including HANAC syndrome, characterized by features observed in our patient, such as kidney cysts, hematuria, retinal vascular tortuosity, leukoencephalopathy, and cerebral microhemorrhages (144). The prevalence of pathogenic *COL4A1* variants has been estimated at a level of at least 1 in 5,594 individuals (43). In a cohort of 702 patients with cystic kidney disease, Bi et al. identified a *COL4A1* variant in one patient (145). Although *COL4A1* variants are distributed throughout the gene, only a small proportion occurs within the first 20 exons; the variant closest to that identified in our patient (p.(Gly148Glu)) has been reported in exon 8 (146).

Certain hereditary cancer syndromes, including von Hippel–Lindau disease and TSC, may present with renal cysts. Although no renal tumors were observed in this cohort, one patient was diagnosed with TSC, presenting with multiple kidney cysts and drug-resistant epilepsy. In this patient, a novel likely pathogenic *TSC2* variant, c.4857C>G, p.(Phe1619Leu), was identified. Reported *TSC2* variants are heterogeneous – including nonsense, missense, frameshift, and splicing variants – and are distributed throughout the gene (147,148).

The primary limitation of this study was the relatively small sample size, particularly within certain subgroups, which limited the ability to perform reliable statistical comparisons among rare diagnoses. In the ADPKD group, some potentially significant differences may not have emerged due to the small number of patients with *PKD2* variants, although this distribution was

expected. The results might have been more informative if the precise age at the disease onset had been known; however, due to the nature of the disease and the often-subtle early manifestations, the disease onset is frequently difficult to determine. Phenotypic assessment was further complicated by heterogeneity in clinical data completeness, as patients were referred with varying extents of prior evaluation. Consequently, some parameters lacked precise values, and imaging assessments inevitably involved a degree of subjectivity. Additional insights could have been obtained through broader evaluation of ADPKD families; however, despite recommendations provided during genetic counseling, only a small fraction of the affected family members came for segregation analysis.

CONCLUSIONS

1. In this heterogeneous group of cystic kidney diseases, a molecular diagnosis was established in nearly 70% of the families involved. Next-generation sequencing was effective in detecting both single-nucleotide variants and structural genomic variants. Autosomal dominant polycystic kidney disease was identified in slightly more than a half of the families (55.88%). Disease-causing variants were most frequently detected in *PKD1*, and less commonly in *PKD2*; an atypical case due to a *GANAB* variant was also identified, as well as a phenocopy associated with a *COL4A1* gene variant.
2. In the group with a specific kidney cyst phenotype, a positive family history and an established molecular diagnosis were significantly more frequent (73.68%) than in the group with a nonspecific phenotype (47.06%). The distribution of diagnoses across groups indicates that, in some cases, even well-defined disorders cannot be reliably diagnosed based on clinical features alone.
3. In the ADPKD group, a positive family history was an important factor associated with a higher rate of molecular diagnosis, as were the kidney size and the presence of liver cysts. In ADPKD-associated genes, almost all identified variants were unique across families. Novel likely pathogenic variants have been identified, and nearly half of all variants ($n = 29$) had not been previously reported in the medical literature.
4. In *PKD1* and *PKD2*, most identified variants were truncating. Patients with truncating variants had larger kidneys than those with non-truncating variants, thus reflecting an effect of the variant type on earlier renal cyst progression. When assessing genotype-specific effects, *PKD1* variants were associated with worse renal function and a higher prevalence of arterial hypertension. Thus, an accurate molecular diagnosis may contribute, at least in part, to disease prognosis.
5. In the group with non-ADPKD diagnoses, a broad spectrum of clinical presentations was observed, ranging from congenital anomalies of kidney development to nonspecific multiple renal cyst phenotypes. The study findings confirm that cystic kidney diseases constitute a heterogeneous group with cyst manifestations occurring across a wide age range.

APIE AUTORE

Vardas ir pavardė Deimantė Braždžiūnaitė

Išsilavinimas

2016 m. Medicinos magistras, medicinos gydytojo kvalifikacija (Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas)

2020 m. Gydytojo genetiko kvalifikacija (Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas)

2020–2025 m. Medicinos krypties doktorantūra (Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas)

Darbo veikla

2020 m. Medicinos gydytoja (VšĮ VUL SK Medicininės genetikos centras)

2020 m. iki dabar Gydytoja genetikė (VšĮ VUL SK Medicininės genetikos centras)

2022 m. iki dabar Jaunesnioji asistentė (Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas)

Dalyvavimas biomedicininuose tyrimuose

- Lietuvos gyventojų natrio ir jodo būklės vertinimas ir visuomenės sveikatos politikos gairių sudarymas (NATRIJOD).

Narystė profesinėse organizacijose

- Lietuvos žmogaus genetikos draugijos narė.
- Europos žmogaus genetikos draugijos narė.

Kūrybinė veikla

- Konferencijų „Dismorfologijos vasara“ ir „Baltic metabolic group meeting“ logotipai.
- Logotipas ir kitos iliustracijos interneto puslapiui apie visuotinę naujagimių tikrinimą Lietuvoje: <http://www.patikrinkmane.lt/>
- 2024–2025 m. grafinio dizaino kursai Vilniaus dailės akademijoje.
- Mokomosios knygos „From data to Therapy: A Learning Guide to Clinical Genetics and Bioinformatics in Precision Medicine“ skyriaus „Inborn Errors of Metabolism“ autorė, knygos iliustratorė (šiuo metu recenzuojama).

Publikacijos (ne disertacijos tema)

1. Zakauskiene, U., Macioniene, E., Zabulienė, L., Sukackiene, D., Linkeviciute-Dumce, A., Banys, V., Bratckiovienė, N., Karosienė, D., Slekiene, V., Kontrimas, V., Simanauskas, K., Utkus, A., Brazdziunaite, D., Migline, V., Makarskiene, I., Zurlyte, I., Rakovac, I., Breda, J., Cappuccio, F. P., Miglinas, M. (2022). Sodium, Potassium and Iodine Intake in an Adult Population of Lithuania. *Nutrients*, 14(18), 3817.
<https://doi.org/10.3390/nu14183817>
2. Kalinauskiene, R., Brazdziunaite, D., Burokiene, N., Dirsė, V., Morkuniene, A., Utkus, A., Preiksaitiene, E. (2023). A De Novo 8q22.2q22.3 Interstitial Microdeletion in a Girl with Developmental Delay and Congenital Defects. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 59(6), 1156.
<https://doi.org/10.3390/medicina59061156>

PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju pacientams, kurie manimi pasitikėjo ir atvėrė galimybę tobulėti.

Labiausiai noriu padėkoti savo darbo vadovui prof. dr. Algirdui Utkui už sudarytas sąlygas atlikti šį darbą ir konsultantui prof. dr. Mariui Miglinui už paskatinimą domėtis inkstų ligomis bei jų genetika.

Dėkoju prof. dr. Eglei Preikšaitienei ir dr. Violetai Mikštienei, padėjusioms žengti pirmuosius žingsnius pažįstant genetiką Studentų mokslinės draugijos veikloje.

Visam VUL SK Medicininės genetikos kolektyvui – padėka už palaikymą ir sudarytas sąlygas siekti tikslo. Ypač dėkoju kolegei doc. dr. Birutei Burnytei, kurios patarimai bei išmintis pakylėja ne tik darbuose.

Didžiulė padėka medicinos genetikai Gabijai Mazur – už disertacijos darbo rezultatų peržiūrą, vertingas pastabas, už draugišką palaikymą ir skirtą savo papildomą laiką.

Dėkoju kolegei ir bendražygei doktorantūros kelyje Evelinai Marijai Vaitėnienei, su kuria ši kelionė tapo smagesnė.

Nuoširdžiai dėkoju Santaros klinikų gydytojams nefrologams, labiausiai prisidėjusiems prie tiriamųjų kohortos sudarymo ir šio darbo įgyvendinimo. Ypač dėkoju dr. Agnei Kerpauskienei, prof. dr. Rimantei Čerkauskienei, Loretai Vareikienei, Ilonai Rudminienei.

Noriu padėkoti medicinos studentėms Ugnei Šleivytei ir Deimantei Šatkauskaitei, prisidėjusioms prie literatūros duomenų rinkimo ir suteikusioms malonią bei praturtinusią patirtį vadovaujant Studentų mokslinės veiklos tinklo darbams paveldimų inkstų ligų tema.

Esu labai dėkinga savo Tėvams už nuolatinį palaikymą, tikėjimą ir meilę.

DARBO APROBACIJA

Publikacijos

1. Šatkauskaitė, D., Šleivyte, U., Braždziūnaitė, D. (2024). Paveldimos cistinės inkstų ligos ir jų genetinė diagnostika. *Laboratorinė medicina*, 26 (4), 195–200.
2. Brazdziunaite, D., Mazur, G., Miglinas, M., Utkus, A. (2025). Variable Phenotypic Expression of *PAX2* Variants in Two Lithuanian Families with Kidney Disease. *Medicina*, 61, 597.
<https://doi.org/10.3390/medicina61040597>
3. Brazdziunaite, D., Mazur, G., Kerpauskiene, A., Cerkauskiene, R., Vareikiene, L., Miglinas, M., Utkus, A. (2025). Genetic Characterization of Lithuanian Patients with Cystic Kidney. *Clinical genetics*, 109(2), 277–285. <https://doi.org/10.1111/cge.70036>
4. Cerkauskaite-Kerpauskiene, A., Navickaite, M., Savige, J., Mazur, G., Brazdziunaite, D., Azukaitis, K., Slazaite, G., Laurinavicius, A., Miglinas, M., Vainutiene, V., Strupaite-Sileikiene, R., Misevice, A., Mickeviciene, V., Cerkauskiene, R. (2025). Lithuanian Study on *COL4A3* and *COL4A4* Genetic Variants in Alport Syndrome: Clinical Characterization of 52 Individuals from 38 Families. *International journal of molecular sciences*, 26(15), 7639. <https://doi.org/10.3390/ijms26157639>

Pranešimai

Tarptautiniuose renginiuose:

1. Braždziūnaitė, D. Žodinis pranešimas „Gene therapy of Fabry disease“ 2-ame Baltijos šalių Fabry ekspertų susitikime (angl. *The 2nd Baltic Fabry expert meeting*) 2020 m. spalio 30 d., Rigoje, Latvijoje.
2. Braždziūnaitė, D., Miglinas, M., Utkus, A. Stendinis pranešimas „Next-generation sequencing in the diagnostic approach to autosomal dominant polycystic kidney disease“ virtualioje Europos žmogaus genetikos konferencijoje (angl. *European Human Genetics Conference 2021*) 2021 m. rugpjūčio 28–31 d.
3. Braždziūnaitė, D., Rudminienė, I., Gudynaitė, M., Strupaitė, R., Mazur, G., Miglinas, M., Utkus, A. Stendinis pranešimas „Clinical and genetic features in two patients carrying *PAX2* variants“ Europos žmogaus genetikos konferencijoje (angl. *European Human Genetics Conference 2022*) 2022 m. birželio 11–14 d., Vienoje, Austrijoje.

4. Braždžiūnaitė, D. Žodinis pranešimas „An overview of syndromes with cystic kidney“ tarptautinėje mokslinėje-praktinėje konferencijoje „Dismorfologijos vasara 2023“ (angl. *Dysmorphology summer 2023*) 2023 m. rugpjūčio 17–19 d., Palangoje, Lietuvoje.
5. Braždžiūnaitė, D. Žodinis pranešimas „Diagnostic pathways and screening programs of Fabry disease“ 4-ame Baltijos šalių Fabry ekspertų susitikime (angl. *The 4th Baltic Fabry expert meeting*) 2024 m. gegužės 4 d., Vilniuje, Lietuvoje.
6. Braždžiūnaitė, D., Mazur, G., Utkus, A. Stendinis pranešimas „Defining *PKD1* variants in patients with cystic kidney“ Europos žmogaus genetikos konferencijoje (angl. *European Human Genetics Conference 2024*) 2024 m. birželio 1–4 d., Berlyne, Vokietijoje.
7. Braždžiūnaitė, D., Mazur, G., Utkus, A. Stendinis pranešimas „Genetic characterisation of Lithuanian patients with cystic kidney“ 6-oje tarptautinėje konferencijoje „Evoliucinė medicina: kaip evoliucinis mąstymas gali prisidėti prie medicinos ir sveikatos mokslų“ (angl. *The 6th International Conference: Evolutionary Medicine: How Evolutionary Thinking Can Contribute to the Medical and Health Sciences*) 2024 m. birželio 18–21 d., Vilniuje, Lietuvoje.
8. Braždžiūnaitė, D. Žodinis pranešimas „Nephronophthisis and related syndromes: clinical and genetic overview“ tarptautinėje mokslinėje-praktinėje konferencijoje „Dismorfologijos vasara 2024“ (angl. *Dysmorphology summer 2024*) 2024 m. rugpjūčio 15–17 d., Palangoje, Lietuvoje.
9. Braždžiūnaitė, D. Žodinis pranešimas „Exploring *HNFB*-related pathologies: clinical and genetic spectrum and case series“ tarptautinėje mokslinėje-praktinėje konferencijoje „Dismorfologijos vasara 2024“ (angl. *Dysmorphology summer 2024*) 2024 m. rugpjūčio 15–17 d., Palangoje, Lietuvoje.
10. Braždžiūnaitė, D., Mazur, G., Utkus, A. Stendinis pranešimas „Genetic insights into cystic kidney diseases: Phenocopy detection through next-generation sequencing“ XVII Baltijos šalių laboratorinės medicinos kongrese (angl. *XVII Baltic Congress of Laboratory Medicine*) 2024 m. rugsėjo 5–7 d., Vilniuje, Lietuvoje.
11. Braždžiūnaitė, D., Mazur, G., Utkus, A. Stendinis pranešimas „Detecting *PKD2* variants in Lithuanian patients with cystic kidney“ Europos žmogaus genetikos konferencijoje (angl. *European Human Genetics Conference 2025*) 2025 m. gegužės 24–27 d., Milane, Italijoje.

Nacionaliniuose renginiuose:

1. Braždžiūnaitė, D. Žodinis pranešimas „Inkstų cistos: genetinė ir fenotipinė įvairovė“ nuotoliniame moksliniame-praktiniame seminare „Genetika daugiadisciplinėje sergančiųjų retomis ligomis priežiūroje“ 2022 m. kovo 25 d.
2. Braždžiūnaitė, D. Žodinis pranešimas „Su *PAX2* genu susijusios ligos: atvejų pristatymas“ konferencijoje „Nefrogenetika – proveržis retų inkstų ligų diagnostikoje“ 2023 m. rugsėjo 21 d., Kaune, Lietuvoje.
3. Braždžiūnaitė, D. Žodinis pranešimas „Autosominė dominantinė policistinė inkstų liga: klinikinių duomenų ir variantų analizė *PKD1* gene“ jaunųjų mokslininkų konferencijoje „Bioateitis: gamtos ir gyvybės mokslų perspektyvos“ 2023 m. lapkričio d., Vilniuje, Lietuvoje.

Vilniaus universiteto leidykla
Saulėtekio al. 9, III rūmai, LT-10222 Vilnius
El. p. info@leidykla.vu.lt, www.leidykla.vu.lt
bookshop.vu.lt, journals.vu.lt
Tiražas 15 egz.