

Relevância do diagnóstico genético na identificação de variantes genéticas raras em duas famílias brasileiras com síndrome de Alport

Relevance of genetic diagnosis in the identification of rare genetic variants in two Brazilian families with Alport syndrome

Isadora **KERTSCHER**¹*, Fernanda Arissa **TAKII**¹*, Juliana Fontes **NOGUCHI**¹*, Salmo **RASKIN**¹*, Lilian **PEREIRA-FERRARI**¹*, Liya Regina **MIKAMI**¹*

PALAVRAS-CHAVE: Síndrome de Alport. Doenças genéticas ligadas ao cromossomo X. Colágeno tipo IV.

KEYWORDS: Alport syndrome. Genetic diseases X-linked. Collagen type IV.

INTRODUÇÃO

A síndrome de Alport (SA) é doença renal hereditária progressiva, caracterizada por perda auditiva neurossensorial, anormalidades oculares e injúria renal. Sua frequência na população mundial é cerca de 1:5000, e compreende 0,5% dos casos de insuficiência renal terminal recém-desenvolvida em adultos e 12,9% em crianças.¹

Ela é causada por variantes patogênicas nos genes COL4A3, COL4A4 ou COL4A5 responsáveis por codificar as cadeias $\alpha 3$, $\alpha 4$ e $\alpha 5$ do colágeno tipo IV, respectivamente. Esse colágeno possui 6 cadeias α diferentes, $\alpha 1$ a $\alpha 6$, que constroem estruturas de hélice tripla. A combinação de 3 cadeias α é órgão-específico: na membrana basal glomerular, na membrana basal da cóclea, e na base da lente ocular o triplo $\alpha 3$ - $\alpha 4$ - $\alpha 5$ está presente, enquanto na cápsula de Bowman e na membrana basal da pele, está $\alpha 5$ - $\alpha 5$ - $\alpha 6$. Quando ocorre anormalidade na cadeia α , essas estruturas de hélice tripla são quebradas, causando nefropatia, perda auditiva neurossensorial e lesões oculares.^{1,2} A hereditariedade da SA pode ser por padrão autossômico dominante ou recessivo e ligado ao X dominante ou recessivo (SALX), sendo que este último corresponde a 80% dos casos. No padrão autossômico o gene afetado é o COL4A3 e COL4A4 e no ligado ao X o COL4A5.³

Mais de 800 mutações no gene COL4A5 já foram relatadas, sendo mais de 400 correlacionadas ao SALX. As deleções ou duplicações envolvendo um ou mais éxons têm sido frequentemente descritas e as correlações genótipo-fenótipo já foram claramente estabelecidas na doença.^{1,4} A maioria das análises mutacionais de COL4A5 são baseadas no DNA genômico, com de detecção de 31% a 82%.⁵ As variantes genéticas mais frequentes associadas à AS são c.1807G>A, p.Gly603Ser; c.687+1G>A; c.4809T>G, p.Tyr1603Ter; c.2633G>A, p.Gly878Glu e c.1481del, p.Gly494fs.⁶

Podem também ser observadas as substituições de glicina dentro da sequência repetitiva do triplo (Gly)-X-Y do domínio colagenoso, representando um dos

tipos mais comuns de variante patogênica encontrada em pacientes com SA, pois se suspeita que introduzem torções no molécula, interferindo assim com o dobramento adequado da hélice tripla de colágeno.⁷

O aconselhamento genético preciso e a estimativa do prognóstico em pacientes e famílias é especialmente importante, pois a intervenção terapêutica precoce tem mostrado ser eficaz na SA4, evitando futuras complicações, já que ainda não há cura definitiva.

Este trabalho tem por objetivo mostrar a identificação de 2 mutações raras no gene COL4A5 e analisar sua correlação com a heterogeneidade nas características clínicas dos indivíduos afetados. Além disso, ressaltará a importância em se diferenciar variantes genéticas recessivas e dominantes implicadas diretamente no risco de recorrência familiar, destacando a importância da correta interpretação de sua segregação na família e se relacionar com os sinais e sintomas.

RELATO DOS CASOS

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro Universitário Autônomo do Brasil – UNIBRASIL, Curitiba, PR, Brasil, sob parecer N°005/2009.

Fizeram parte deste estudo 2 famílias atendidas em clínica de aconselhamento genético e análises genéticas na cidade de Curitiba com hipótese diagnóstica para SA e com encaminhamento para a realização de exame genético.

As amostras de sangue tiveram o DNA extraído e as análises genéticas foram realizadas através da reação em cadeia da polimerase (PCR).

FAMÍLIA 1

Foi composta por 1 casal não consanguíneo que teve 11 filhos, sendo 5 homens e 6 mulheres. Dos 13 indivíduos, 2 homens estavam afetados e possuíam sinais e sintomas da SA, como hematúria e problemas

renais brandos (Figura 1). As análises genéticas para os indivíduos afetados (II-5 e II-6), deram positivo para síndrome de Alport. De acordo com as análises feitas através de PCR, foi detectada grande deleção do exon 37 do gene COL4A5. Além disso, a mãe já falecida, também apresentava sinais e sintomas da AS, e nenhum de seus familiares possuíam esses sinais. Como somente os homens foram afetados e seu genitor era normal, trata-se de herança ligada ao X recessivo.

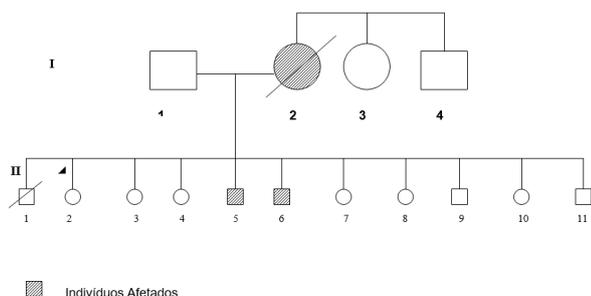


FIGURA 1 - Heredograma da Família 1

FAMÍLIA 2

Foi composta por 1 casal não consanguíneo que teve 3 filhos, 2 homens e 1 mulher. Dos cinco indivíduos, 4 estavam afetados (I-2, II-1, II-2 e II-3) e apresentavam alterações renais, além do fato de que os 2 meninos apresentavam também alteração auditiva (Figura 2). Não havia confirmação da doença na família materna; porém, 1 irmã da genitora teve histórico de comprometimento renal, porém não realizou o teste genético.

Em relação aos aspectos clínicos encontrados nesta família, pôde-se observar que as mulheres afetadas não possuíam problemas auditivos, enquanto a audição nos homens era bastante comprometida. As análises genéticas, através da técnica de PCR, para todos os indivíduos afetados apresentaram resultado positivo para a SA sendo detectada a variante patogênica R373X na porção terminal do exon 19 gene do COL4A5 envolvendo substituição de base CpG->TpG, em um ponto quente mutacional (hotspot). Pelo padrão de segregação da doença, observou-se herança ligada ao X dominante, pois tanto os homens quanto as mulheres heterozigotas estavam afetados.

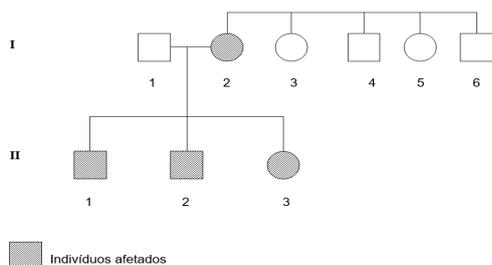


FIGURA 2 - Heredograma da Família 2

DISCUSSÃO

A partir da análise dos heredogramas e histórico familiar foi possível determinar o tipo de herança genética nas 2 famílias. A Família 1 foi diagnosticada com SA de herança ligada ao X recessivo e a Família 2 com herança ligada ao X dominante, sendo que ambas apresentavam alterações genéticas muito raras. Além disso, pôde-se observar heterogeneidade clínica entre os indivíduos afetados; a Família 1 tinha quadro clínico somente hematúria e problemas renais brandos enquanto que a Família 2 manifestou alterações renais e auditivas mais graves. Isso nos permite inferir que esta heterogeneidade está relacionada ao ponto da mutação (exon) e ao tipo de mutação ocorrida, que podem levar à variabilidade fenotípica entre portadores da mesma doença.

Variantes de tamanho similar no exon 37 ainda não foram descritas na literatura. Nozu et al (2008)⁵ identificaram uma deleção maior, do exon 37 ao 51, em uma de suas pacientes com SA e a completa perda do gene COL4A5 na outra. Ambas apresentavam quadro de hematúria e proteinúria, porém apenas a primeira tinha histórico familiar da doença. Barker et al. (2001)⁸ também identificaram 1 paciente com 1 deleção maior do que a encontrada na família do presente estudo, que englobava do exon 3 ao 37; porém, não se pode comparar seus sintomas visto que os autores não descreveram a clínica. Em outro estudo, Zhao et al (2018)⁷ identificaram 1 deleção do exon 37 ao 46, que foi relacionada aos sintomas mais agressivos, como hematúria e/ou proteinúria mais graves e doença renal crônica. Porém, o que todos esses estudos possuem em comum, inclusive o presente trabalho, é que em todas as grandes deleções relatadas em pacientes com SA, houve envolvimento do exon 37, mostrando que este exon parece ser fundamental para a formação da proteína e sua consequente deleção, responsável pelo quadro da SA.

Uma mutação idêntica a encontrada na Família 1, com deleção envolvendo somente o exon 37 e com sinais e sintomas de hematúria, problemas renais brandos e com histórico familiar, ainda não foi relatada na literatura envolvendo pacientes com SA, sendo este achado inédito fornecendo importante contribuição científica.

Em relação à variante patogênica encontrada na Família 2, mutações missense no exon 19 no gene COL4A5 foram pouco descritas na literatura, em apenas 6 estudos, sendo que em 2 deles ela foi relacionada com a SALX.⁶ Contudo, de acordo com outros trabalhos, parece haver tendência desse tipo de alterações estar localizado antes do exon 25, como ocorreu na Família 2¹⁰, sugerindo que essas mutações podem levar à modificação no triplo processo de formação de hélice da proteína do colágeno tipo IV. Assim, esse estudo corrobora os dados da literatura que a troca de nucleotídeos em exons anteriores ao 25 - neste caso no exon 19 - podem gerar injúria na membrana basal de rins e cóclea. Desta forma, este trabalho reforça a relação da

variante R373X do gene COL4A5 como agente causal para a SA.

Ambas as variantes genéticas identificadas neste relato são pouco descritas, ou nunca descritas, na literatura mundial e parecem estar relacionadas à variabilidade fenotípica apresentada pelos indivíduos com AS; portanto, este trabalho demonstra a importância de se confirmar por exames genéticos específicos a hipótese diagnóstica para doença de causa genética já que isso também auxilia no diagnóstico de outros casos da síndrome e fornecem informações importantes para o serviço de aconselhamento genético da família dos pacientes, com relação ao risco de recorrência, diagnóstico precoce e tratamento mais direcionado e com medicina antecipatória para a SA.

Trabalho realizado na

¹Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

Correspondência

Liya Regina Mikami
Email: liyamikami@gmail.com

Financiamento: Nenhum

Conflito de interesse: Nenhum

Contribuição dos autores

Conceituação: Isadora Kertscher
Investigação: Fernanda Arissa Takii
Metodologia: Juliana Fontes Noguchi

Administração do projeto: Salmo Raskin

Supervisão: Lilian Pereira-Ferrari

Redação (revisão e edição): Liya Regina Mikami

REFERÊNCIAS

1. Nozu K, Nakanishi K, Abe Y, Udagawa T, Okada S, Okamoto T, et al. A review of clinical characteristics and genetic backgrounds in Alport syndrome. *Clin Exp Nephrol*. 2019;23(2):158-168.
2. Kashtan CE. Alport Syndrome: Achieving Early Diagnosis and Treatment. *Am J Kidney Dis*. 2021;77(2):272-279.
3. Kamiyoshi N, Nozu K, Fu XJ, Morisada N, Nozu Y, Ye MJ, et al. Genetic, Clinical, and Pathologic Backgrounds of Patients with Autosomal Dominant Alport Syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016;11(8):1441-1449.
4. Morinière V, Dahan K, Hilbert P, Lison M, Lebbah S, Topa A, et al. Improving Mutation Screening in Familial Hematuric Nephropathies through Next Generation Sequencing. *Am Soc Nephrol*. 2014;12(12):2740-2751.
5. Nozu K, Przybylski KR, Ohtsuka Y, Nakanishi K, Yoshikawa N, Nozu Y, et al. Detection of large deletion mutations in the COL4A5 gene of female Alport syndrome patients. *Pediatr Nephrol*. 2008;23(11):2085-2090.
6. ClinVar. National Library of Medicine: National Center of Biotechnology Information [Internet]. USA Government [acesso em 7 fev 2023]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>.
7. Zhao X, Chen C, Wei Y, Zhao G, Liu L, Wang C, et al. Novel mutations of COL4A3, COL4A4, and COL4A5 genes in Chinese patients with Alport Syndrome using next generation sequence technique. *Mol Genet Genomic Med*. 2019;7(6):e653.
8. Barker DF, Denison JF, Atkin CL, Gregory MC. Efficient Detection of Alport Syndrome COL4A5 Mutations With Multiplex Genomic PCR-SSCP. *Am J Med Genet*. 2001;98(2):148-160.
9. Zhang, Li, et al. "An overview of the multi-pronged approach in the diagnosis of Alport syndrome for 22 children in Northeast China." *BMC nephrology*, 2020;21(1):1-13.
10. Hashimura, Y., Nozu, K., Kaito, H., Nakanishi, K., Fu, X. J., Ohtsubo, H., ... & Iijima, K.. Milder clinical aspects of X-linked Alport syndrome in men positive for the collagen IV $\alpha 5$ chain. *Kidney international*, 2014;85(5),1208-1213.