

Protokol k molekulárně genetickému vyšetření a vyšetření negenetických faktorů nefrotického syndromu (NS) u dětí

Vyberte vyhovující:

Rychlá genetická diagnostika pacienta/příbuzného se steroid-rezistentním NS

(rutinní vyšetření genů: *NPHS2*, *WT1*, *NUP93*; u pacientů s kongenitálním NS na žádost i *NPHS1* do 4 týdnů; případně po domluvě možné NGS vyšetření panelu genů asociovaných se SRNS s výsledkem do 6 měsíců)

Pro úplné stanovení genetického výsledku je nutné odebrat vzorek krve rodičů probanda případně pak dalších členů rodiny.

1. Nechat pacienta/příbuzné podepsat informovaný souhlas a vyplnit klinický dotazník.
2. **Odběr 2 ml nesrážlivé krve (zkumavka s EDTA)** ke genetickému vyšetření.
Zkumavku řádně označit jménem a rodným číslem pacienta/příbuzného.
3. Vzorky skladujte v lednici při cca 4-8 °C maximálně jeden týden.
4. Vzorky krve nejpozději do jednoho týdne, ideálně v pondělí, odešlete spolu s vyplněným dotazníkem v bublinkové obálce (zkumavku zabalte do buničiny nebo savé utěrky a do nepropustného sáčku) na adresu:

Prof. MUDr. Zdeněk Šumník, Ph.D.
Pediatrická klinika FN Motol a 2. LF UK
V Úvalu 84
150 06 Praha 5

Nově diagnostikované dítě s NS

(studie k vyšetření genetických a negenetických faktorů podmiňujících vznik NS)

První odběr dítěte s NS (před zahájením glukokortikoidní léčby)

1. Nechat pacienta podepsat informovaný souhlas a vyplnit klinický dotazník.
2. Označit zkumavky jako 1. odběr + jménem a rodným číslem pacienta.
3. **Odběr 5 ml srážlivé krve (bez přísad)** s následným stočením a zmražením séra:
 - a. vzorek po 30-60 (max 120) minutách centrifugovat k oddělení séra
 - b. sérum odebrat do zmrazovací zkumavky a uskladnit při teplotě -20 °C
4. **Odběr 2 ml nesrážlivé krve (zkumavka s EDTA)** ke genetickému vyšetření.
 - a. Vzorek uskladnit při teplotě -20 °C.
5. **Odběr 6 ml moči**
 - a. Vzorek uskladnit při teplotě -20 °C.

Kontrolní odběr po úvodní kůře glukokortikoidů (po 6 týdnech od zahájení léčby)

1. Do dotazníku doplnit zejména informaci o rezistenci/senzitivitě ke kortikoidům.
2. Označit zkumavky jako 2. odběr + jménem a rodným číslem pacienta.
3. **Odběr 5 ml srážlivé krve (bez přísad)** s následným stočením a zmražením séra:
 - b. vzorek po 30-60 (max 120) minutách centrifugovat k oddělení séra
 - c. sérum odebrat do zmrazovací zkumavky a uskladnit při teplotě -20 °C
4. **Odběr 6 ml moči**
 - d. Vzorek uskladnit v mrazáku při -20 °C.
5. **Pokud se jedná o steroid-rezistentní NS – odebrat 2 ml nesrážlivé krve (EDTA) od dalších členů rodiny (rodičů a sourozenců).** Vzorky všech krví (nikoliv séra) nejpozději do jednoho týdne, ideálně v pondělí, odešlete spolu s vyplněným dotazníkem v bublinkové obálce (zkumavku zabalte do buničiny nebo savé utěrky a do nepropustného sáčku) na adresu:

Prof. MUDr. Zdeněk Šumník, Ph.D.
Pediatrická klinika FN Motol a 2. LF UK
V Úvalu 84
150 06 Praha 5

6. Informovat náš tým na adrese nefrostudie@fnmotol.cz nebo martin.bezdicka@fnmotol.cz, domluvíme termín vyzvednutí vzorků

Molekulárně genetické vyšetření a vyšetření negenetických faktorů dětí s nefrotickým syndromem (NS)

Prosím zaškrtněte požadované vyšetření:

- Rychlá genetická diagnostika u pacienta se steroid-rezistentním NS**
 proband příbuzný
- Nově diagnostikované dítě s NS**

Pacient: Jméno a příjmení: Rodné číslo: Tel.č.:	Odesílající lékař: Jméno a příjmení: Tel.č.: Datum a čas odběru: Razítko oddělení a podpis lékaře:
---	---

Údaje o pacientovi:		RA:	
Pohlaví	<input type="checkbox"/> ženské <input type="checkbox"/> mužské	Historie NS v rodině	<input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE
Porod v termínu (gestační týden)	<input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE (.....)	Příbuzenský vztah	
Oligohydramnion	<input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE	Věk příbuzného při manifestaci	
Příbuznost rodičů	<input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE	Typ NS	
		Terapie, dialýza, transplantace	

Manifestace NS:			
Věk		Extrarenální komplikace	<input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE jaké:
Váha (kg)		Další symptomy při manifestaci	<input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE jaké:
Výška (cm)			
Otoky	<input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE	Renální biopsie- nález	
Hypertenze	<input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE		
Hematurie	<input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE		

Laboratorní nálezy pacienta při manifestaci a po 6 týdnech terapie kortikoidy:

	při manifestaci datum:	po 6 týdnech terapie kortikoidy datum:
S- kreatinin (μmol/l)		
S- celková bílkovina (g/l)		
S- albumin (g/l)		
eGFR dle Schwartze (ml/min/1,73m ²)		
U- CB/krea ratio (mg/mmol)		
Imunologie- IgG, IgA, ANA, ANCA, ENA, dsDNA	<input type="checkbox"/> bez patologie <input type="checkbox"/> patologie; jaká:	<input type="checkbox"/> bez patologie <input type="checkbox"/> patologie; jaká:

Laboratorní nálezy pacienta při poslední ambulantní kontrole; datum:

S- kreatinin (μmol/l)		Stupeň CKD
S- albumin (g/l)		Relapsy (počet celkem)
eGFR dle Schwartze (ml/min/1,73m ²)		Dialýza
U- CB/krea ratio (mg/mmol)		<input type="checkbox"/> ANO (<input type="checkbox"/> HD / <input type="checkbox"/> PD), od: <input type="checkbox"/> NE
		Transplantace
		<input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE

Terapie kortikoidy, imunosupresivy:

Imunosuprese	Terapie (od-do)	Odpověď na terapii	Relapsy
Kortikoidy (60mg/m ² /den 6 týdnů)		<input type="checkbox"/> úplná remise <input type="checkbox"/> částečná remise <input type="checkbox"/> rezistence	<input type="checkbox"/> ANO; počet: <input type="checkbox"/> NE
Cyklofosfamid <input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE		<input type="checkbox"/> úplná remise <input type="checkbox"/> částečná remise <input type="checkbox"/> rezistence	<input type="checkbox"/> ANO; počet: <input type="checkbox"/> NE
Cyklosporin <input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE		<input type="checkbox"/> úplná remise <input type="checkbox"/> částečná remise <input type="checkbox"/> rezistence	<input type="checkbox"/> ANO; počet: <input type="checkbox"/> NE
jiné (název): <input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE		<input type="checkbox"/> úplná remise <input type="checkbox"/> částečná remise <input type="checkbox"/> rezistence	<input type="checkbox"/> ANO; počet: <input type="checkbox"/> NE

Symptomatická terapie:

ACE inhibitor	<input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE	Furosemid	<input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE
Blokátor angioten. rec.	<input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE	Thiazid	<input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> NE

Komentář (doplňující údaje):

Genetické a negenetické příčiny nefrotického syndromu

Vážení rodiče, vážení pacienti,

Vaše dítě či Vy osobně jste sledováni a léčeni pro **nefrotický syndrom**. Příčina tohoto onemocnění může být buď získaná během života, nebo vrozená. Vrozené formy této nemoci mohou být způsobeny poruchou **genů** (například NPHS2, NPHS1, WT1 a dalších), které kódují bílkoviny nutné ke správné funkci filtrační bariéry ledvin, nebo jinými (např. imunologickými) faktory, které filtrační bariéru poškozují. Tyto faktory způsobí zvýšenou propustnost filtrační bariéry, což vede k symptomům nefrotického syndromu jako je proteinurie (únik bílkovin z krve do moče) a otoky.

Jaký je prospěch z genetického vyšetření

Pro pacienty a jejich rodiče může být nalezení genetické příčiny onemocnění velmi důležité.

Znalost konkrétního genetického defektu totiž umožní:

- lépe odhadnout další vývoj onemocnění u pacienta
- geneticky diagnostikovat další členy rodiny
- určit riziko opakování onemocnění u dalších členů rodiny (u sourozenců, dětí)

Molekulárně-genetická vyšetření jsou náročná finančně i časově. Proto očekáváme, že výsledky vyšetření budou známy nejdříve v příštím kalendářním roce. O výsledcích budete informováni písemně nebo svým ošetřujícím lékařem. Znalost genetického defektu Vám může pomoci rozhodnout se o dalším navrhovaném postupu péče o Vaše onemocnění.

V některých rodinách genetickou příčinu onemocnění však nenalezneme. Je to zejména proto, že nejsou známy ani zdaleka všechny geny, jejichž defekt může poruchu způsobit. I Váš vzorek však bude podroben co nejširšímu spektru vyšetření všech genů, o nichž se předpokládá, že onemocnění mohou způsobit. Pokud nyní žádný defekt nenalezneme, uschovaný vzorek bude dále vyšetřován, jakmile pokrok vědy otevře další cesty k poznání tohoto onemocnění.

Jaký je prospěch z negenetického vyšetření krve

U pacientů, u kterých nenalezneme změnu v jednom z vyšetřovaných genů, se předpokládá, že v krvi existují faktory, které přímo filtrační bariéru poškozují anebo k jejímu poškození přispívají. Pokrok ve vyšetřovacích metodách nyní umožňuje tyto faktory zkoumat. Nalezení takového faktoru u konkrétního jedince přispívá k lepšímu poznání nemoci a může vést k nové cílené terapii.

Co je k vyšetření třeba

K vyšetření je třeba odebrat ze žíly několik mililitrů krve. Odběr bude proveden při pravidelné laboratorní kontrole ve Vaší nefrologické ambulanci. Z krve pak bude získána DNA (deoxyribonukleová kyselina – nositel genetické informace). Následovat bude **molekulárně - genetické vyšetření**, jehož cílem bude zjistit, zda některý z vybraných genů nese defekt, který je příčinou nefrotického syndromu. Další část odběru bude podrobena testování na přítomnost potencionálních negenetických faktorů poškození filtrační bariéry ledvin.

Pro efektivní a cílené vyšetření je třeba shromáždit a vyhodnotit některé **údaje o onemocnění** u Vás či ve Vaší rodině. Tyto údaje získá Váš lékař výpisem z dokumentace nebo krátkým pohovorem s Vámi. Budou nám zaslány v dotazníku současně se vzorkem. Ochrana Vašich osobních dat bude řádně zajištěna podle platných norem.

Rizika plynoucí z vyšetření

Neexistují žádná podstatná zdravotní rizika plynoucí z vyšetření (jedná se pouze o jednorázový běžný odběr krve). Rizikem však může být, že genetickým vyšetřením v některých rodinách nalezneme informace, které Vy nebo členové vaší rodiny nevíte nebo byste si nepřáli vědět. V některých rodinách nemusí být biologický otec ten, kdo byl za otce pokládán, v jiných rodinách je potomek adoptován, aniž o tom ví. Nalezení netypického vzorce dědičnosti budeme konzultovat s Vaším ošetřujícím lékařem a Vám jej sdělíme pouze, pokud lékař ví, že skutečnost je v rodině již známa.

Kontakt na tým provádějící vyšetření

Svoje případné dotazy o vyšetřování prosím směřujte na následující členy týmu:

doc. MUDr. Jakub Zieg, Ph.D., jakub.zieg@fnmotol.cz, tel.: 224 432 256

doc. MUDr. Ondřej Souček, Ph.D., ondrej.soucek@lfmotol.cuni.cz, tel: 257 296 763

Mgr. Martin Bezdíčka, Ph.D., martin.bezdicka@fnmotol.cz, tel.: 257 296 763, 224 432 026

Pediatrická klinika Fakultní nemocnice v Motole a 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
V Úvalu 84, Praha 5, 150 06

Informovaný souhlas podle vyhlášky Ministerstva zdravotnictví "O zdravotnické dokumentaci" ze dne 21.7.2006, 385/2006 Sb.

Písemný souhlas s vyšetřováním genetických a negenetických příčin nefrotického syndromu

Tento souhlas dostáváte v kopii domů, abyste měli kdykoli k dispozici základní informace o vyšetřování, kterému bude Váš vzorek podroben, a abyste měli kontakt na laboratoř, když se budete chtít na něco zeptat.

Druhou (podepsanou) kopii nám zašle Váš lékař spolu se vzorkem. Bez Vašeho písemného souhlasu vzorek vyšetřovat nemůžeme.

Níže stvrzuji svým podpisem, že

- jsem byl informován o charakteru vyšetření, prospěchu z něj i rizicích a že jsem informacím porozuměl.
- souhlasím s tím, že mně / mému dítěti bude odebrán vzorek krve, ze kterého bude získána DNA. Ta bude poté skladována na dobu neurčitou a zkoumána s cílem odhalit genetický podklad nefrotického syndromu u mne nebo v mé rodině.
- dále souhlasím s tím, že část vzorku krve bude testována na negenetické faktory způsobující nefrotický syndrom.
- souhlasím s tím, že v souvislosti s tím poskytnu informace o svém zdravotním stavu a stavu svých rodinných příslušníků.
- souhlasím s transportem své DNA (bez osobních informací) do laboratoří, které pracují na obdobných genetických testech a které pomohou s odhalením genetické podstaty poruchy u mne nebo mé rodiny a s transportem krve do výzkumné laboratoře zkoumající negenetické faktory poškození filtrační bariéry ledvin. Adresu laboratoří sdělíme na požádání.
- jsem si vědom, že informace o mně a mé rodině organizátoři projektu budou považovat za přísně důvěrné.
- jsem si vědom, že na mou žádost v průběhu projektu bude zničen vzorek, který mi byl odebrán a vymazány veškeré osobní informace tak, aby dále nebylo možné nalézt, od koho pochází DNA ze vzorku získaná.
- jsem si vědom, že odmítnutí odběru vzorku nebo odmítnutí dalšího vyšetřování nebo změny léčby nebude mít vliv na lékařskou péči, které se mi dostává.
- jsem byl lékařem informován o charakteru vyšetření a že jsem měl možnost klást dotazy, na které jsem dostal řádné odpovědi.

Podepsán*: _____ (jméno a příjmení)

_____ (rodné číslo)

Podpis: _____

Jako*: sám pacient nebo sám jeho rodinný příslušník

zákonný zástupce dítěte (doplňte): _____ (jméno a příjmení)

_____ (rodné číslo)

Poznámky: _____

*) Pokud se jedná o vyšetření pacienta pod patnáct let věku, musíme vyžadovat vždy souhlas zákonného zástupce.

Poučení provedl lékař (identifikace a podpis): _____