

ĐỘT BIẾN TRÊN GEN *NPHS1* VÀ *PLCE1* (*NPHS3*) Ở HAI BỆNH NHÂN MẮC HỘI CHỨNG THẬN HƯ BẨM SINH NGƯỜI VIỆT NAM

Nguyễn Thị Kim Liên¹✉, Phạm Văn Đэм², Nguyễn Thu Hương³, Trần Minh Đầm³, Nguyễn Huy Hoàng¹, Nguyễn Thị Quỳnh Hương⁴

¹Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

³Bệnh viện Nhi Trung ương

⁴Đại học Y Hà Nội

✉Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: ntkimlienibt@gmail.com

Ngày nhận bài: 22.6.2018

Ngày nhận đăng: 25.9.2018

TÓM TẮT

Hội chứng thận hư bẩm sinh (Congenital nephrotic syndrome - CNS) là bệnh di truyền do các gen trên nhiễm sắc thể thường gây ra, thường xảy ra trong ba tháng đầu sau khi sinh. Nguyên nhân gây hội chứng là do sự khiếm khuyết của các gen mã hóa cho các protein cấu tạo nên cầu lọc thận dẫn đến mất chức năng lọc của cầu thận. Cho đến nay, đã xác định được một số gen liên quan đến hội chứng như *NPHS1*, *NPHS2*, *PLCE1* (*NPHS3*), *ACTN4*, *CD2AP*, *INF2* và *WT1*. Trong bài báo này, chúng tôi tiến hành khuếch đại các đoạn exon trên gen *NPHS1* và *PLCE1* ở hai bệnh nhân và các thành viên trong gia đình bệnh nhân mắc hội chứng thận hư bẩm sinh người Việt Nam. Sản phẩm PCR khuếch đại các đoạn exon được tinh sạch và giải trình tự trực tiếp trên máy giải trình tự tự động ABI 3500 Bio System (Mỹ). Kết quả giải trình tự được so sánh với trình tự gen *NPHS1* và *PLCE1* (mã số ENSG00000161270 và ENSG00000138193 trên ENSEMBL) bằng phần mềm BioEdit để xác định các biến đổi trên gen *NPHS1* và *PLCE1*. Chúng tôi đã xác định được hai đột biến: c.2398C>T (p.Arg800Cys, exon 18), c.3315G>A (p.Ser1105Ser, exon 26) trên gen *NPHS1* và hai đột biến: c.5330 C>T (p.Thr1777Ile, exon 23), c.5780A>G (p.His1927Pro, exon 25) trên gen *PLCE1* ở các bệnh nhân nghiên cứu. Các kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi có thể là các bằng chứng khẳng định thêm về vai trò của các đột biến trên gen *NPHS1* và *PLCE1* trong việc hình thành hội chứng thận hư bẩm sinh ở bệnh nhân. Đây là các thông tin hữu ích trong việc xác định nguyên nhân gây bệnh từ đó đưa ra các tư vấn di truyền cho gia đình bệnh nhân.

Từ khóa: Bệnh nhân Việt Nam, bệnh di truyền, đột biến trên gen *NPHS1*, đột biến trên gen *PLCE1*, hội chứng thận hư bẩm sinh (CNS)

MỞ ĐẦU

Hội chứng thận hư bẩm sinh (Congenital nephrotic syndrome - CNS) là bệnh di truyền do các gen mã hóa cho các protein cấu trúc và chức năng của thận nằm trên nhiễm sắc thể thường gây ra. Một loạt các gen liên quan đến quá trình hình thành, phát triển của thận đã được xác định, đồng thời với nó là các nghiên cứu về vai trò của các gen này trong sự hình thành hội chứng thận hư bẩm sinh. Các gen này bao gồm: *NPHS1* (mã hóa cho protein nephrin) (McCarthy, Saleem, 2011), *NPHS2* (mã hóa cho protein podocin) (Schwarz *et al.*, 2001), *PLCE1* (*NPHS3*, mã hóa cho phospholipase C epsilon 1) (Wing *et al.*, 2003), *ACTN4* (mã hóa cho protein α -

actinin-4) (Smoyer *et al.*, 1997; Kaplan *et al.*, 2000), *CD2AP* (mã hóa cho protein CD2) (Kim *et al.*, 2003), *INF2* (mã hóa cho protein formin) (Brown *et al.*, 2010), *TRPC6* (mã hóa cho thụ thể kênh dẫn truyền 6) (Reiser *et al.*, 2005; Winn *et al.*, 2005), *WT1* (mã hóa cho một yếu tố phiên mã Zn-finger) (Pritchard-Jones *et al.*, 1990).

Gen *NPHS1* nằm trên nhiễm sắc thể 19 tại vị trí 19q13.1 bao gồm 29 exon mã hóa cho nephrin protein gồm 1241 amino acid (Kestila *et al.*, 1998). Vai trò của gen *NPHS1* ở bệnh nhân mắc CNS đã được khẳng định trên nhiều nghiên cứu khác nhau và phân tích đột biến gen này trở thành tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán xác định. Cho đến nay, đã có nhiều nghiên cứu phân tích các đột biến gen *NPHS1* qua đó

đã tìm ra được 220 vị trí đột biến trên gen *NPHS1* (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>). Trên 90% bệnh nhân mắc CNS có đột biến gen *NPHS1* (Sonmez *et al.*, 2008). Tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây bên cạnh việc xác định đột biến trên gen *NPHS1* còn xác định đột biến trên một số gen khác nhằm xác định một cách đầy đủ nhất các nguyên nhân của CNS (Sako *et al.*, 2005; Ismaili *et al.*, 2009; Santin *et al.*, 2011).

Gen *PLCE1* nằm trên nhiễm sắc thể số 10 (10q23), mã hóa cho protein phospholipase C epsilon 1 gồm 31 exon. Đây là một thành viên trong họ enzym phospholipase xúc tác phản ứng thủy phân polyphosphoinositides để tạo ra các chất dẫn truyền thứ cấp inositol-1,4,5 trisphosphate và diacylglycerol (Wing *et al.*, 2003). Những chất dẫn truyền thứ cấp này tham gia vào sự phát triển và phân hóa tế bào trong quá trình hình thành và phát triển thận (Wing *et al.*, 2003). Đột biến trên gen *PLCE1* (*NPHS3*) dẫn đến sự sai hỏng trong cấu trúc của cầu lọc thận podocyte, gây ra sự xơ cứng của cầu lọc thận (Gbadegesin *et al.*, 2008; 2009). Vì vậy, đột biến trên gen *PLCE1* là một dạng nghiêm trọng của CNS với tiến triển nhanh đến suy thận giai đoạn cuối. Nhiều nghiên cứu cũng cho thấy các đột biến trên gen *PLCE1* còn liên quan đến hiện tượng kháng thuốc điều trị ở các bệnh nhân thận hư (Boyer *et al.*, 2010; Sadowski *et al.*, 2015; Lovric *et al.*, 2016).

Nghiên cứu đột biến trên gen *PLCE1* gần đây đang được chú ý nhiều, được xem như một trong các nguyên nhân gây CNS (Gilbert *et al.*, 2009; Boyer *et al.*, 2010; Al-Hamed *et al.*, 2013; McCarthy *et al.*, 2013; Kari *et al.*, 2014; Trautmann *et al.*, 2015). Đột biến trên gen *PLCE1* đã được phát hiện đến 50% bệnh nhân mắc CNS (Hinkes *et al.*, 2006; Lowik *et al.*, 2008; Boyer *et al.*, 2010). Nghiên cứu của Hinkes *et al.*, (2006) cho thấy đột biến trên gen *PLCE1* là nguyên nhân gây khởi phát sớm của CNS. Cho đến nay đã có 38 đột biến trên gen *PLCE1* được xác định có liên quan đến CNS (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>). Các nghiên cứu mới nhằm xác định các đột biến liên quan đến bệnh vẫn tiếp tục được thực hiện, nghiên cứu của Sethi *et al.*, (2017) đã xác định được một đột biến đồng hợp tử mới (c.2290G>T, p.Glu764*) trên exon 7 của gen *PLCE1* ở bệnh nhân CNS.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành giải trình tự toàn bộ 29 exon trên gen *NPHS1* và 31 exon trên gen *PLCE1* ở hai bệnh nhân và các thành viên trong gia đình bệnh nhân mắc CNS người Việt Nam nhằm xác định các đột biến gen liên quan đến bệnh.

Các kết quả của nghiên cứu sẽ cung cấp các thông tin hữu ích trong việc làm sáng tỏ nguyên nhân gây bệnh và giúp tư vấn di truyền cho gia đình bệnh nhân.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu

Mẫu máu của bệnh nhân và các thành viên trong gia đình bệnh nhân được chẩn đoán mắc CNS, nhập viện và điều trị tại Khoa Thận và Lọc máu, Bệnh viện Nhi trung ương. Các bệnh nhân có triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng đặc trưng của CNS xuất hiện trước ba tháng tuổi. Các xét nghiệm sinh hóa máu và nước tiểu cho thấy protein và creatin máu tăng (ở người bình thường chỉ số này là 6 - 24 mg/dL và 0,5 - 1,2 mg/dL), albumin máu giảm (ở người bình thường là 35 - 50 g/L), điện giải đồ cho thấy natri và calci máu giảm trong khi kali máu tăng (ở người bình thường các chỉ số này tương ứng là 135 - 145 mmol/L, 2,2 - 2,6 mmol/L, 3,5 - 4,5 mmol/L), protein niệu 24 giờ tăng (ở người bình thường là 0 - 0,2 g/24 giờ) và có phù.

Nghiên cứu đã được thông qua “Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu Y học” của Viện Nghiên cứu hệ gen theo quyết định số 15/QĐ-NCHG ngày 22 tháng 3 năm 2018. Đồng thời khi thực hiện nghiên cứu chúng tôi đã giải thích và nhận được sự chấp thuận của gia đình bệnh nhân trong việc cung cấp mẫu máu cho các nghiên cứu di truyền và công bố. Các thông tin cá nhân của bệnh nhân và gia đình được bảo mật theo qui định về đạo đức.

Phương pháp nghiên cứu

Toàn bộ 29 exon trên gen *NPHS1* và 31 exon trên gen *PLCE1* được khuếch đại bằng phản ứng PCR với các cặp mồi đặc hiệu được tổng hợp theo báo cáo của Lenkkeri *et al.*, (1999) và Hinkes *et al.*, (2006). Giải trình tự các đoạn được khuếch đại trên gen *NPHS1* và *PLCE1* bằng phương pháp giải trình tự trực tiếp từ sản phẩm PCR trên máy giải trình tự tự động ABI 3500 Bio System (Mỹ) theo phương pháp của Sanger *et al.*, (1977). Phân tích kết quả giải trình tự và so sánh với trình tự gen *NPHS1* và *PLCE1* đã được công bố trên Ensembl với mã số ENSG00000161270 và ENSG00000138193 bằng phần mềm BioEdit.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Bệnh nhân thứ nhất

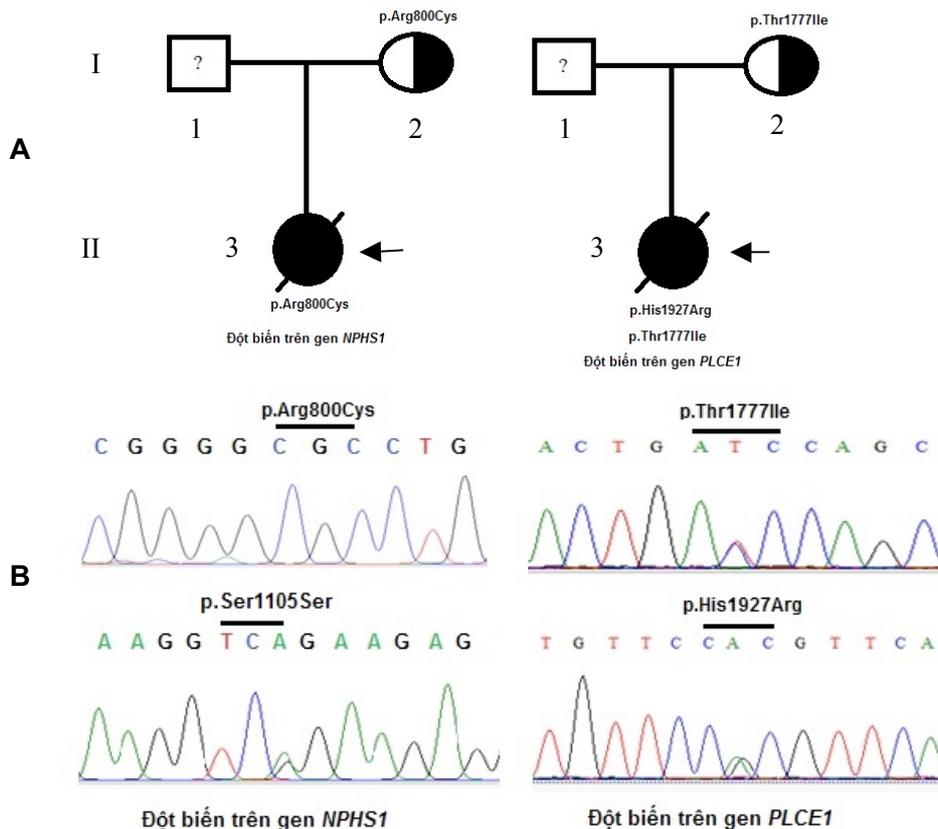
Là bé gái 1,5 tháng tuổi, nhập viện trong tình

trạng tiêu chảy nặng, viêm phổi, bệnh nhân được chẩn đoán mắc CNS. Tiền sử bệnh nhân là con đầu trong gia đình, được sinh đủ tháng, quá trình mang thai bình thường nên không rõ trọng lượng của nhau thai. Kết quả xét nghiệm cho thấy: các chỉ số sinh hóa máu như protein: 69 mg/dL, creatinine: 4,9 mg/dL, albumin: 9,6 g/L, điện giải đồ: natri/kali/canci: 122/5,5/1,9 mmol/L, chỉ số sinh hóa nước tiểu như protein niệu: 3,2 g/24 h.

Chúng tôi đã thu thập mẫu máu của bệnh nhân và mẹ của bệnh nhân cho các nghiên cứu di truyền để xác định các đột biến gen liên quan đến bệnh. Tuy nhiên, chúng tôi không lấy được mẫu máu của bố bệnh nhân để nghiên cứu.

Phân tích đột biến trên gen *NPHS1* và *PLCE1* cho thấy bệnh nhân mang đồng thời hai đột biến c.2398C>T (p.Arg800Cys, exon 18) và c.3315G>A (p.Ser1105Ser, exon 26) trên gen *NPHS1* và hai đột biến c.5330 C>T (p.Thr1777Ile, exon 23) và

c.5780A>G (p.His1927Pro, exon 25) ở dạng dị hợp tử trên gen *PLCE1* (Hình 1). Chúng tôi đã không thu thập được mẫu máu của bố bệnh nhân, nhưng phân tích đột biến cho thấy mẹ của bệnh nhân mang đột biến dị hợp tử p.Arg800Cys trên gen *NPHS1* và hai đột biến dị hợp tử p.Thr1777Ile và p.His1927Arg trên gen *PLCE1*. Mặc dù mẹ bệnh nhân mang đột biến p.Arg800Cys và p.Thr1777Ile ở dạng dị hợp tử nhưng lại có kiểu hình bình thường. Trái lại, bệnh nhân lại có biểu hiện bệnh rất nặng điều này có thể là do bệnh nhân mang đột biến đồng hợp tử p.Arg800Cys và còn mang thêm đột biến dị hợp tử p.Ser1105Ser. Đột biến p.Ser1105Ser trên exon 26, mặc dù không làm thay đổi amino acid nhưng đột biến này đã được xác định trên các bệnh nhân người Phần Lan và Trung Quốc (Lahdenkari *et al.*, 2004; Shi *et al.*, 2005) và một bệnh nhân có kiểu hình bệnh rất nặng người Trung Quốc (Yu *et al.*, 2012). Đột biến p.Arg800Cys đã được phát hiện trên hai bệnh nhân mắc thận hư người Phần Lan (Lahdenkari *et al.*, 2004).



Hình 1. Sơ đồ gia hệ và các đột biến được xác định trên gen *NPHS1* và *PLCE1* ở bệnh nhân thứ nhất. A: Sơ đồ gia hệ của bệnh nhân thứ nhất, hình vuông (người cha), hình tròn (người mẹ và bệnh nhân). B: Biểu đồ đọc trình tự tại các điểm đột biến trên gen *NPHS1* và *PLCE1* ở bệnh nhân.

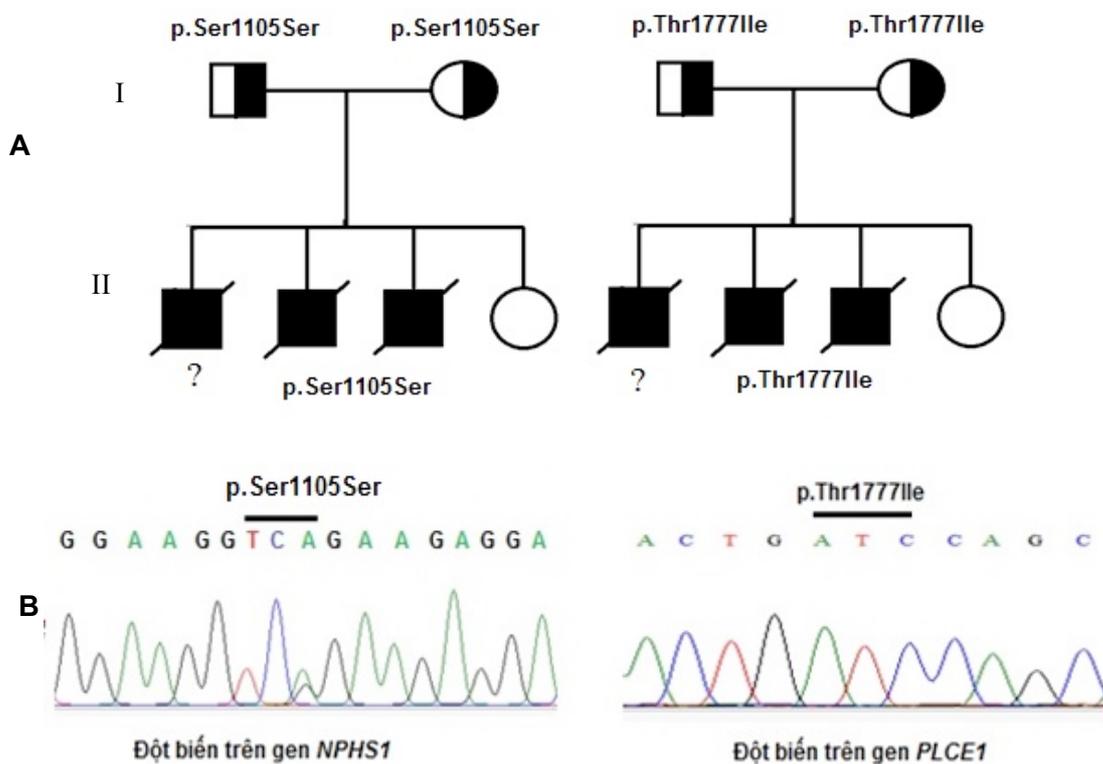
Bệnh nhân thứ hai

Là bé trai 3 tháng tuổi, nhập viện trong tình trạng phù nặng, viêm phổi nặng và suy thận nặng, bệnh nhân được chẩn đoán mắc CNS. Tiền sử bệnh nhân là con thứ tư trong gia đình, được sinh đủ tháng, quá trình mang thai bình thường nên không rõ trọng lượng của nhau thai. Kết quả xét nghiệm cho thấy: các chỉ số sinh hóa máu như protein: 159 mg/dL, creatinine: 3,5 mg/dL albumin: 8,2 g/L, điện giải đồ: natri/kali/canci: 122/5,5/1,7 mmol/L, protein niệu 6,9 g/24 h. Bệnh nhân có hai anh trai cũng mắc CNS và đã tử vong lúc 7 và 10 tháng tuổi. Tuy nhiên, chị gái của bệnh nhân không bị bệnh.

Chúng tôi đã thu thập mẫu máu của bệnh nhân, bố mẹ, một anh trai và chị gái của bệnh nhân cho các nghiên cứu di truyền để xác định các đột biến gen liên

quan đến bệnh. Tuy nhiên, chúng tôi không lấy được mẫu máu của một anh trai bệnh nhân để nghiên cứu.

Phân tích đột biến cho thấy bệnh nhân mang đồng thời một đột biến dị hợp tử p.Ser1105Ser trên gen *NPHS1* và một đột biến đồng hợp tử p.Thr1777Ile trên gen *PLCE1* (Hình 2), bệnh nhân cũng có kiểu hình rất nặng. Phân tích đột biến với các thành viên trong gia đình bệnh nhân cho thấy bố và mẹ bệnh nhân đều mang đột biến dị hợp p.Ser1105Ser trên gen *NPHS1* và đột biến dị hợp p.Thr1777Ile trên gen *PLCE1* với kiểu hình bình thường. Anh trai bệnh nhân mang đột biến dị hợp p.Ser1105Ser trên gen *NPHS1* và đột biến đồng hợp p.Thr1777Ile trên gen *PLCE1*, anh của bệnh nhân đã tử vong khi 10 tháng tuổi do CNS. Chị gái bệnh nhân mang kiểu gen và kiểu hình bình thường.



Hình 3. Sơ đồ gia hệ và các đột biến được xác định trên gen *NPHS1* và *PLCE1* ở bệnh nhân thứ hai. A: Sơ đồ gia hệ của bệnh nhân thứ hai, hình vuông (người cha, anh trai và bệnh nhân), hình tròn (người mẹ và chị gái bệnh nhân). B: Biểu đồ đọc trình tự tại các điểm đột biến trên gen *NPHS1* và *PLCE1* ở bệnh nhân.

Các nghiên cứu trước đây đã cho thấy đột biến trên gen *NPHS1* là nguyên nhân chính, một số gen khác như *NPHS2*, *WT1*, *LAMB2* và *PLCE1* cũng

được xác định là nguyên nhân gây CNS (Sako *et al.*, 2005; Hinkes *et al.*, 2007; Ismaili *et al.*, 2009; Jalanko *et al.*, 2009). Nghiên cứu của Hinkes *et al.*,

(2007) cho thấy đột biến trên gen *NPHS1* chiếm 39,1%, *NPHS2* chiếm 39,1%, *WT1* chiếm 2,2% và *LAMB2* chiếm 4,4% nguyên nhân gây bệnh. Nghiên cứu của Ismaili *et al.*, (2009) cũng cho thấy đột biến trên gen *NPHS1*, *NPHS2*, *WT1* chiếm 20% và *PLCE1* chiếm 15% nguyên nhân gây bệnh. Như vậy, các kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi có thể là các bằng chứng khẳng định thêm về vai trò của các đột biến trên gen *NPHS1* và *PLCE1* trong việc hình thành CNS ở bệnh nhân.

KẾT LUẬN

Phân tích di truyền trên gen *NPHS1* và *PLCE1* ở hai bệnh nhân mắc CNS, chúng tôi đã xác định được hai đột biến: p.Arg800Cys (exon 18), p.Ser1105Ser (exon 26) trên gen *NPHS1* và hai đột biến: p.Thr1777Ile (exon 23), p.His1927Arg (exon 25) trên gen *PLCE1*. Kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy hai bệnh nhân này mang đồng thời các đột biến trên gen *NPHS1* và *PLCE1* với kiểu hình rất nặng, đây là những bằng chứng khẳng định thêm vai trò đột biến trên các gen này trong việc hình thành CNS.

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành với sự tài trợ kinh phí của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cho đề tài VAST02.04/18-19, Viện Nghiên cứu hệ gen.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Al-Hamed MH, Al-Sabban E, Al-Mojalli H, Al-Harbi N, Faqeih E, Al Shaya H, Alhasan K, Al-Hissi S, Rajab M, Edwards N, Al-Abbad A, Al-Hassoun I, Sayer JA, Meyer BF (2013) A molecular genetic analysis of childhood nephrotic syndrome in a cohort of Saudi Arabian families. *J Hum Genet* 58: 480–489.

Boyer O, Benoit G, Gribouval O, Nevo F, Pawtowski A, Bilge I, Bircan Z, Deschenes G, Guay-Woodford LM, Hall M, Macher MA, Soulami K, Stefanidis CJ, Weiss R, Loirat C, Gubler MC, Antignac C (2010) Mutational analysis of the *PLCE1* gene in steroid resistant nephrotic syndrome. *J Med Genet* 47: 445–452.

Brown EJ, Schlondorff JS, Becker DJ, Tsukaguchi H, Tonna SJ, Uscinski AL, Higgs HN, Henderson JM, Pollak MR (2010) Mutations in the formin gene *INF2* cause focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet* 42: 72–76.

Gbadegesin R, Hinkes BG, Hoskins BE, Vlangos CN, Heeringa SF, Liu J, Loirat C, Ozaltin F, Hashmi S, Ulmer F, Cleper R, Ettenger R, Antignac C, Wiggins RC, Zenker M, Hildebrandt F (2008) Mutations in *PLCE1* are a major

cause of isolated diffuse mesangial sclerosis (IDMS). *Nephrol Dial Transplant* 23: 1291–1297.

Gbadegesin R, Bartkowiak B, Lavin PJ, Mukerji N, Wu G, Bowling B, Eckel J, Damodaran T, Winn MP (2009) Exclusion of homozygous *PLCE1* (*NPHS3*) mutations in 69 families with idiopathic and hereditary FSGS. *Pediatr Nephrol* 24: 281–285.

Gilbert RD, Turner CL, Gibson J, Bass PS, Haq MR, Cross E, Buyan DJ, Collins AR, Tapper WJ, Needell JC, Dell B, Morton NE, Temple IK, Robinson DO (2009) Mutations in phospholipase C epsilon 1 are not sufficient to cause diffuse mesangial sclerosis. *Kidney Int* 75: 415–419.

Hinkes B, Wiggins RC, Gbadegesin R, Vlangos CN, Seelow D, Nürnberg G, Garg P, Verma R, Chaib H, Hoskins BE, Ashraf S, Becker C, Hennies HC, Goyal M, Wharram BL, Schachter AD, Mudumana S, Drummond I, Kerjaschki D, Waldherr R, Dietrich A, Ozaltin F, Bakkaloglu A, Cleper R, Basel-Vanagaite L, Pohl M, Griebel M, Tsygin AN, Soyul A, Müller D, Sorli CS, Bunney TD, Katan M, Liu J, Attanasio M, O'toole JF, Hasselbacher K, Mucha B, Otto EA, Airik R, Kispert A, Kelley GG, Smrcka AV, Gudermann T, Holzman LB, Nürnberg P, Hildebrandt F (2006) Positional cloning uncovers mutations in *PLCE1* responsible for a nephrotic syndrome variant that may be reversible. *Nat Genet* 38: 1397–1405.

Hinkes BG, Mucha B, Vlangos CN, Gbadegesin R, Liu J, Hasselbacher K, Hangan D, Ozaltin F, Zenker M, Hildebrandt F (2007) Nephrotic syndrome in the first year of life: two thirds of cases are caused by mutations in 4 genes (*NPHS1*, *NPHS2*, *WT1*, and *LAMB2*). *Pediatrics* 119: e907–e919.

Ismaili K, Pawtowski A, Boyer O, Wissing KM, Janssen F, Hall M (2009) Genetic forms of nephrotic syndrome: a single-center experience in Brussels. *Pediatr Nephrol* 24(2): 287–294.

Jalanko H (2009). Congenital nephrotic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* 24: 2121–2128.

Kaplan JM, Kim SH, North KN, Rennke H, Correia LA, Tong HQ, Mathis BJ, Rodriguez-Perez JC, Allen PG, Beggs AH, Pollak MR (2000) Mutations in *ACTN4*, encoding alpha-actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet* 24: 251–256.

Kari JA, Montini G, Bockenhauer D, Brennan E, Rees L, Trompeter RS, Tullus K, Van't Hoff W, Waters A, Ashton E, Lench N, Sebire NJ, Marks SD (2014) Clinicopathological correlations of congenital and infantile nephrotic syndrome over twenty years. *Pediatr Nephrol* 29: 2173–2180.

Kestila M, Lenkkeri U, Mannikko M, Lamerdin J, McCready P, Putaala H, Ruotsalainen V, Morita T, Nissinen M, Herva R, Kashtan CE, Peltonen L, Holmberg C, Olsen A, Tryggvason K (1998) Positionally cloned gene

- for a novel glomerular protein nephrin is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol Cell* 1: 575–582.
- Kim JM, Wu H, Green G, Winkler CA, Kopp JB, Miner JH, Unanue ER, Shaw AS (2003) CD2-associated protein haploinsufficiency is linked to glomerular disease susceptibility. *Science* 300: 1298–1300.
- Lahdenkari AT, Kestila M, Holmberg C, Koskimies O, Jalanko H (2004) Nephrin gene (*NPHS1*) in patients with minimal change nephrotic syndrome (MCNS). *Kidney International* 65: 1856–1863.
- Lenkkeri U, Mannikko M, McCready P, Lamerdin J, Gribouval O, Niaudet PM, Antignac CK, Kashtan CE, Homberg C, Olsen A, Kestila M, Tryggvason K (1999) Structure of the gene for congenital nephrotic syndrome of the finnish type (*NPHS1*) and characterization of mutations. *Am J Hum Genet* 64: 51–61.
- Lovric S, Ashraf S, Tan W, Hildebrandt F (2016) Genetic testing in steroid-resistant nephrotic syndrome: when and how? *Nephrol Dial Transplant* 31: 1813–1821.
- Lowik M, Levtschenko E, Westra D, Groenen P, Steenbergen E, Weening J, Lilien M, Monnens L, van den Heuvel L (2008) Bigenic heterozygosity and the development of steroid-resistant focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrol Dial Transplant* 23: 3146–3151.
- McCarthy HJ, Saleem MA (2011) Genetics in clinical practice: nephrotic and proteinuric syndromes. *Nephron Exp Nephrol* 118: e1–e8.
- McCarthy HJ, Bierzynska A, Wherlock M, Ognjanovic M, Kerecuk L, Hegde S, Feather S, Gilbert RD, Krischock L, Jones C, Sinha MD, Webb NJ, Christian M, Williams MM, Marks S, Koziell A, Welsh GI, Saleem MA (2013) Simultaneous sequencing of 24 genes associated with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 8: 637–648.
- Pritchard-Jones K, Fleming S, Davidson D, Bickmore W, Porteous D, Gosden C, Bard J, Buckler A, Pelletier J, Housman D, van Heyningen V, Hastie N (1990) The candidate Wilm's tumor gene is involved in genitourinary development. *Nature* 346: 194–196.
- Reiser J, Polu KR, Moller CC, Kenlan P, Altintas MM, Wei C, Faul C, Herbert S, Villegas I, Vila-Casado C, McGee M, Sugimoto H, Brown D, Kalluri R, Mundel P, Smith PL, Clapham DE, Pollak MR (2005) TRPC6 is a glomerular slit diaphragm-associated channel required for normal renal function. *Nat Genet* 37: 739–744.
- Sadowski CE, Lovric S, Ashraf S, Pabst WL, Gee HY, Kohl S, Engelmann S, Vega-Warner V, Fang H, Halbritter J, Somers MJ, Tan W, Shril S, Fessi I, Lifton RP, Bockenhauer D, El-Desoky S, Kari JA, Zenker M, Kemper MJ, Mueller D, Fathy HM, Soliman NA (2015) A single-gene cause in 29.5% of cases of steroid-resistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 26: 1279–1289.
- Sako M, Nakanishi K, Obana M, Yata N, Hoshii S, Takahashi S, Wada N, Takahashi Y, Kaku Y, Satomura K, Ikeda M, Honda M, Iijima K, Yoshikawa N (2005) Analysis of *NPHS1*, *NPHS2*, *ACTN4*, and *WT1* in Japanese patients with congenital nephrotic syndrome. *Kidney International* 67: 1248–1255.
- Santín S, Bullich G, Tazon-Vega B, García-Maset R, Gimenez I, Silva I, Ruiz P, Ballarín J, Torra R, Ars E (2011) Clinical utility of genetic testing in children and adults with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 6: 1139–1148.
- Schwarz K, Simons M, Reiser J, Saleem MA, Faul C, Kriz W, Shaw AS, Holzman LB, Mundel P (2001) Podocin, a raft-associated component of the glomerular slit diaphragm, interacts with CD2AP and nephrin. *J Clin Invest* 108: 41621–41629.
- Sethi SK, Wadhvani N, Jha P, Duggal R, Vega-Warner V, Raina R, Bansal SB, Kher V, Sampson MG, Otto EA (2017) A familial infantile renal failure. *Kidney Int Rep* 2: 130–133.
- Shi Y, Ding J, Liu JC, Wang H, Bu DF (2005) *NPHS1* mutations in a Chinese family with congenital nephrotic syndrome. *Zhonghua Er Ke Za Zhi* 43: 805–809.
- Sonmez F, Mir S, Berdeli A, Aydogdu SA, Altincik A (2008) Podocin mutations in a patient with congenital nephrotic syndrome and cardiac malformation. *Pediatr Int* 50: 828–830.
- Smoyer WE, Mundel P, Gupta A, Welsh MJ (1997) Podocyte alphaactinin induction precedes foot process effacement in experimental nephrotic syndrome. *Am J Physiol* 273: F150–F157.
- Trautmann A, Bodria M, Ozaltin F, Gheisari A, Melk A, Azocar M, Anarat A, Caliskan S, Emma F, Gellermann J, Oh J, Baskin E, Ksiazek J, Remuzzi G, Erdogan O, Akman S, Dusek J, Davitaia T, Özkaya O, Papachristou F, Firszt-Adamczyk A, Urasinski T, Testa S, Krmar RT, Hyla-Klekt L, Pasini A, Özçakar ZB, Sallay P, Çakar N, Galanti M, Terzic J, Aoun B, Caldas Afonso A, Szymanik-Grzelak H, Lipska BS, Schnaidt S, Schaefer F (2015) Spectrum of steroid-resistant and congenital nephrotic syndrome in children: The PodoNet Registry cohort. *Clin J Am Soc Nephrol* 10: 592–600.
- Wing MR, Bourdon DM, Harden TK (2003) PLC-epsilon: a shared effector protein in Ras-, Rho-, and G alpha beta gamma-mediated signaling. *Mol Interv* 3: 273–280.
- Winn MP, Conlon PJ, Lynn KL, Farrington MK, Creazzo T, Hawkins AF, Daskalakis N, Kwan SY, Ebersviller S, Burchette JL, Pericak-Vance MA, Howell DN, Vance JM, Rosenberg PB (2005) A mutation in the TRPC6 cation channel causes familial focal segmental glomerulosclerosis. *Science* 308: 1801–1804.
- Yu ZH, Wang DJ, Meng DC, Huang J, Nie XJ (2012) Mutations in *NPHS1* in a Chinese child with congenital nephrotic syndrome. *Genet Mol Res* 11(2): 1460–1464.

MUTATIONS IN *NPHS1* AND *PLCE1* (*NPHS3*) IN TWO VIETNAMESE PATIENTS WITH CONGINETAL NEPHROTIC SYNDROME

Nguyen Thi Kim Lien¹, Pham Van Dem², Nguyen Thu Huong³, Tran Minh Dien³, Nguyen Huy Hoang¹,
Nguyen Thi Quynh Huong⁴

¹*Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology*

²*University of Science, Vietnam National University, Hanoi*

³*Vietnam National Hospital of Pediatrics*

⁴*Hanoi Medical University*

SUMMARY

Congenital nephrotic syndrome (CNS), a genetic disease caused by the mutations in genes on autosomes, is usually occurs in the first three months after birth. The mutations in genes that encode for the structural and functional proteins of podocytes lead to loss of the function of glomerular filtration. So far, a number of genes related to the disease have been identified such as: *NPHS1*, *NPHS2*, *PLCE1* (*NPHS3*), *ACTN4*, *CD2AP*, *INF2* and *WT1*. In this article, we amplified all of exons in *NPHS1* and *PLCE1* genes of two Vietnamese patients with CNS and members of patients' family. PCR products were purified and sequenced directly on automatic sequencer ABI 3500 Bio System (USA). The sequencing results were compared with the sequences of *NPHS1* and *PLCE1* genes published in the Ensembl database (ENSG00000161270 and ENSG00000138193, respectively) by using BioEdit software to detect mutations. We identified two mutations: c.2398C>T (p.Arg800Cys, exon 18), c.3315A>G (p.Ser1105Ser, exon 26) in *NPHS1* gene and two mutations: c.5330 C>T (p.Thr1777Ile, exon 23), c.5780A>G (p.His1927Arg, exon 25) in *PLCE1* gene in study patients. These two patients carried simultaneously the mutations in the *NPHS1* and *PLCE1* genes with serious phenotype. The results of our study might be evidences for the role of mutations in *NPHS1* and *PLCE1* genes in the development of disease in patients. These are useful information in identifying the cause of disease and provide the genetic counseling to the patients' family.

Keywords: *Congenital nephrotic syndrome (CNS), genetic disease, mutations in NPHS1, mutations in PLCE1, Vietnamese patients*