



## Artículo especial

# Estudio genético en pacientes jóvenes con enfermedad renal crónica avanzada de etiología no filiada. Diseño del estudio GENSEN<sup>☆</sup>



Miquel Blasco<sup>a,b,c,\*,1</sup>, Borja Quiroga<sup>c,d,1</sup>, José M. García-Aznar<sup>e</sup>, Roser Torra<sup>c,f,g,h</sup>, Alberto Ortiz<sup>c,i,j</sup>, Patricia de Sequera<sup>c,k,l</sup> y Grupo colaborativo GENSEN

<sup>a</sup> Servicio de Nefrología y Trasplante Renal, Centro de Referencia en Enfermedad Glomerular Compleja del Sistema Nacional de Salud (CSUR), Barcelona, España

<sup>b</sup> IDIBAPS, Hospital Clínic, Universitat de Barcelona, Barcelona, España

<sup>c</sup> RICORS2040, Madrid, España

<sup>d</sup> IIS-La Princesa, Servicio de Nefrología, Hospital Universitario de la Princesa, Madrid, España

<sup>e</sup> Área Clínica de Diagnóstico Genético – Nefrología, Healthincode, A Coruña, España

<sup>f</sup> Enfermedades renales hereditarias, Servicio de Nefrología, Fundació Puigvert, Barcelona, España

<sup>g</sup> Institut d'Investigacions Biomèdiques (IIB-Sant Pau), Barcelona, España

<sup>h</sup> Departamento de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Barcelona, España

<sup>i</sup> Servicio de Nefrología e Hipertensión, IIS-Fundación Jiménez Díaz UAM, Madrid, España

<sup>j</sup> Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

<sup>k</sup> Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Infanta Leonor, Madrid, España

<sup>l</sup> Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España

## INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

### Historia del artículo:

Recibido el 17 de julio de 2023

Aceptado el 5 de septiembre de 2023

On-line el 9 de septiembre de 2023

### Palabras clave:

Diagnóstico etiológico

Enfermedad renal crónica

Enfermedades hereditarias

Estudio genético

Etiología no filiada

Medicina de precisión

## RESUMEN

**Introducción:** La enfermedad renal crónica (ERC) de etiología no filiada es una de las principales causas de tratamiento sustitutivo renal en nuestro medio. Estudios previos en otros territorios sugieren que las enfermedades hereditarias podrían ser una de las potenciales causas de esta patología, especialmente en los pacientes más jóvenes. El estudio GENSEN evaluará la presencia de variantes genéticas patogénicas en sujetos que hayan desarrollado ERC categoría G5 antes de los 46 años, de etiología no filiada.

**Métodos:** Estudio observacional, prospectivo y multicéntrico, que evalúa la utilidad diagnóstica de la secuenciación masiva de alto rendimiento (HTS) dirigida a un conjunto de genes, en la identificación de la causa de la ERC. Se incluirán pacientes de todo el territorio español, a los que se extraerá una muestra de sangre o saliva, analizando posteriormente un panel de 529 genes asociados con enfermedad renal hereditaria. Esta publicación comunica el protocolo del estudio.

<sup>☆</sup> La lista de colaboradores del estudio GENSEN se encuentra en el [anexo 2](#). Asimismo, los genes, fenotipo OMIM, patología renal asociada y Pubmed se encuentran en el [anexo 1](#).

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [miblasco@clinic.cat](mailto:miblasco@clinic.cat) (M. Blasco).

<sup>1</sup> Estos autores han contribuido igualmente a este trabajo.

<https://doi.org/10.1016/j.nefro.2023.09.002>

0211-6995/© 2023 Sociedad Española de Nefrología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

**Conclusión:** El estudio GENSEN permitirá evaluar el rendimiento diagnóstico del estudio del panel de genes en sujetos jóvenes de nuestro medio con desarrollo de ERC categoría G5 sin causa clara. Un diagnóstico etiológico ofrecería potenciales beneficios para pacientes y familiares (terapias dirigidas, ensayos clínicos, detección manifestaciones extrarrenales, evaluación de familiares para donación de vivo, estimación del riesgo de recurrencia en el injerto renal, consejo genético, entre otros) y permitiría acercar el estudio genético a la nefrología de nuestro país.

© 2023 Sociedad Española de Nefrología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Genetic study in young patients with chronic kidney disease stage G5 from unknown etiology. The GENSEN study design

### A B S T R A C T

#### Keywords:

Etiological diagnosis  
Chronic kidney disease  
Hereditary diseases  
Genetic study  
Unknown etiology  
Precision medicine

**Introduction:** Chronic kidney disease (CKD) of unknown etiology is one of the main causes of renal replacement therapy in our environment. Previous studies in other territories suggest that hereditary diseases could be one of the potential causes of this pathology, especially in younger patients. The GENSEN study will evaluate the presence of pathogenic genetic variants in subjects who have developed CKD category G5 before the age of 46, of unknown etiology.

**Methods:** Observational, prospective and multicenter study, which evaluates the diagnostic usefulness of massive high-throughput sequencing (HTS) directed at a set of genes, in identifying the cause of CKD. Patients from all over Spain will be included, from whom a blood or saliva sample will be extracted, subsequently analyzing a panel of 529 genes associated with hereditary kidney disease. This publication communicates the study protocol and design.

**Conclusion:** The GENSEN study will allow to evaluate the diagnostic performance of a gene panel study in young subjects from our environment with the development of category G5 CKD without a clear cause. An etiological diagnosis would offer potential benefits for patients and relatives (targeted therapies, clinical trials, detection of extrarenal manifestations, evaluation of relatives for living kidney donation, estimation of the risk of recurrence in the kidney graft, genetic counseling, among others) and would allow genetic study to be brought closer to nephrology in our country.

© 2023 Sociedad Española de Nefrología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Introducción

La enfermedad renal es un problema de salud pública que alcanza a alrededor de 850 millones de personas en el mundo con una prevalencia estimada en España de aproximadamente 15%<sup>1-3</sup>. El desarrollo de una enfermedad renal crónica (ERC) se acompaña de un pronóstico vital acortado, sobre todo patente en términos cardiovasculares, por lo que su prevención y detección precoz debe ser una prioridad<sup>4</sup>. Dentro de las medidas encaminadas a paliar las consecuencias de la ERC, el diagnóstico etiológico de certeza es una necesidad en la actualidad no cubierta correctamente. De hecho, el Registro Español de Enfermos Renales (REER), en su informe del año 2021 coloca la ERC de origen no filiado como la segunda causa de enfermedad renal entre los pacientes incidentes en terapia renal sustitutiva, abarcando 18% de los casos, solo después de la diabetes que constituye 25,5%<sup>5</sup>.

En los últimos años, el desarrollo de la medicina genética ha permitido identificar más de 600 alteraciones genéticas

como causa de enfermedad renal de herencia Mendeliana. Hasta la fecha, el estudio más relevante publicado analizó por secuenciación de exoma a 3.315 pacientes con ERC de los cuales 281 (8,5%) no tenían una etiología aclarada. Entre los sujetos con enfermedad renal de causa no definida, el estudio genético identificó en 51 (18,1%) una patología subyacente de origen monogénico<sup>6</sup>.

La trascendencia de un diagnóstico de certeza de la causa de la enfermedad renal arroja beneficios a diferentes niveles, incluyendo la posibilidad de realizar un tratamiento específico o la de participación en ensayos clínicos o el desarrollo de nuevas vías de investigación con dianas terapéuticas dirigidas; pero también pronósticos, sobre todo en el momento del trasplante renal, permitiendo una aproximación correcta ante una eventual disfunción del injerto, pudiendo incluso administrar medidas profilácticas para evitar recidivas<sup>7</sup>. Más allá del devenir del propio paciente, el diagnóstico de una enfermedad hereditaria ofrecería la posibilidad de efectuar un despistaje a su descendencia mediante consejo genético con sus bene-

ficios inherentes o la opción de diagnosticar una enfermedad renal oculta en potenciales donantes<sup>8</sup>.

A pesar de que las recientes guías *Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) 2022* abordan las posibles indicaciones para solicitar un estudio genético e instan a generalizarlo, la realidad es que aún las nefropatías hereditarias forman parte de un porcentaje significativo de la enfermedad renal de etiología no filiada<sup>9</sup>.

Con el objetivo de paliar esta necesidad, la Sociedad Española de Nefrología (S.E.N.) promueve el estudio GENSEN titulado «Detección de enfermedades hereditarias en pacientes con insuficiencia renal crónica avanzada de etiología no filiada», cuyo diseño presentamos en el presente artículo.

## Métodos

### Población de estudio

Se incluirán pacientes que hayan desarrollado una ERC categoría G5, filtrado glomerular estimado (FGe) inferior a 15 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> y/o en tratamiento sustitutivo renal, antes de cumplir los 46 años, sin etiología clara. Se calcula reclutar un total de 500 sujetos en un periodo aproximado de 12 meses. Todos los participantes deberán dar su consentimiento por escrito antes de ser incluidos. El estudio ha sido aprobado por el comité de ética de investigación del Hospital Universitario de La Princesa y ha sido realizado en cumplimiento con la Declaración de Helsinki y con los requisitos legales pertinentes de la Investigación Biomédica (Ley 14/2007). Tanto los datos personales como las muestras biológicas serán obtenidos, tratados y almacenados con la más estricta confidencialidad de acuerdo con lo establecido en la Ley Orgánica 3/2018, del 5 de diciembre de Protección de Datos Personales y Garantía de los Derechos Digitales.

### Diseño del estudio

Estudio observacional, prospectivo y multicéntrico, para evaluar la utilidad diagnóstica de la secuenciación masiva de alto rendimiento en pacientes jóvenes (< 46 años) con ERC avanzada de causa no identificada. Actualmente se están reclutando sujetos en edad pediátrica y adultos en 30 centros de todo el territorio español.

### Intervención

Tras la revisión exhaustiva del cumplimiento de los criterios de inclusión y la firma del consentimiento informado, se incluirá a los pacientes en el estudio GENSEN. A partir de un formulario se recogerán los datos demográficos, clínicos e histológicos disponibles. Se procederá a la obtención de muestras sanguíneas (3-5 mL en tubos de ácido etilendiaminatetraacético [EDTA]) o bien de saliva que serán remitidas en menos de 24 horas al centro logístico de *Health in Code* (A Coruña, España) donde se procesarán y analizarán. Las muestras se recogerán aprovechando citas para analíticas asistenciales y/o visitas médicas definidas por el seguimiento clínico periódico de los participantes, evitando así la realización de otros procedimientos innecesarios.

## Metodología

### Secuenciación del ADN y análisis de variantes

El estudio genético se realizará mediante la tecnología de secuenciación de alto rendimiento (HTS) aplicado a una librería customizada de genes asociados a nefropatías hereditarias. En primer lugar, se extraerá el ADN de las muestras de sangre o saliva mediante purificación automática de ADN genómico (QIAsymphony SP<sup>®</sup>, QIAGEN, Hilden, Alemania). Las librerías se enriquecerán utilizando un kit de sondas de hibridación específicas *SureSelectXT Low input* (Agilent Technologies, Santa Clara, California, Estados Unidos) para el método de secuenciación multiplex *paired-end* de *Illumina* y los fragmentos obtenidos se secuenciarán en la plataforma *NovaSeq 6000 sequencing system* (Illumina, San Diego, California, Estados Unidos) siguiendo las instrucciones del fabricante. El enriquecimiento de las zonas de interés permite capturar las regiones codificantes y las áreas intrónicas adyacentes de los genes seleccionados para la librería de genes personalizada, que incluye 529 genes asociados a patologías renales hereditarias (tabla 1, Anexo 1). Las sondas han sido diseñadas para cubrir adecuadamente todos los exones codificantes y 50 pares de bases (pb) de secuencias intrónicas flanqueantes, por lo tanto, esta prueba no podrá identificar variantes genéticas ubicadas en zonas profundamente intrónicas alejadas de los sitios de empalme o regiones UTR (del inglés *untranslated region*, regiones no traducidas de los genes). Los *clusters* se prepararon utilizando el dispositivo *cBot* (Illumina, San Diego, California, Estados Unidos).

El análisis bioinformático se realizará mediante una *pipeline* interna *end-to-end* desarrollado por *Health in Code* (HIC-Mutations, Versión 11.8.8326.1681), de acuerdo con las mejores prácticas de análisis de *Whole Exome Sequencing* (WES). Los datos de secuenciación se analizarán mediante un proceso que incluye demultiplexado de la muestra, refinamiento y ajuste de los alineamientos, llamada de variantes, normalización, control de calidad de secuencia, generación de estadísticas de coberturas por región de interés y cuantificación de la variación del número copias (CNV) junto con la evaluación de puntos de control de calidad<sup>10</sup>. Esta prueba puede identificar variantes de un solo nucleótido (SNV) e inserciones/deleciones (INDEL) de hasta 50 pb. Las variantes genéticas se identifican empleando el genoma de referencia GRCh37/hg19 y se notifican siguiendo las recomendaciones de la *Human Genome Variation Society* (HGVS) ([www.hgvs.org](http://www.hgvs.org)).

La priorización e interpretación de las variantes genéticas se realiza considerando criterios clínicos, científicos genéticos y poblacionales, contrastando estos datos con diferentes bases de datos de población, enfermedad, genes y variantes y utilizando herramientas de predicción computacional. De acuerdo con las guías del Colegio Americano de Genética Médica (ACMG)<sup>11</sup>, la clasificación de variantes se efectúa con base en cinco categorías: patogénica, probablemente patogénica, variante de significado incierto, probablemente benigna y benigna. La interpretación de los resultados se ha llevado a cabo de acuerdo con los conocimientos científicos actuales, la evidencia clínica y la información disponible en las bases de

**Tabla 1 – Panel de 529 genes asociados a enfermedades hereditarias renales**

ACE, ACTB, ACTG1, ACTN4, ADAMTS13, ADAMTS9, ADCY10, AGT, AGTR1, AGXT, AHI1, ALG1, ALG8, ALG9, ALMS1, ALPL, AMER1, ANKFY1, ANKS6, ANLN, ANOS1, AP2S1, APOA1, APOA4, APOE, APOL1, APRT, AQP2, ARHGAP24, ARHGADIA, ARL13B, ARL3, ARL6, ARMC9, ATN1, ATP6V0A4, ATP6V1B1, ATP6V1C2, AVIL, AVP, AVPR2, B2 M, B3GLCT, B9D1, B9D2, BBIP1, BBS1, BBS10, BBS12, BBS2, BBS4, BBS5, BBS7, BBS9, BICC1, BMP2, BMP4, BMPER, BNC2, BSLC2, BSND, C1QA, C1QB, C1QC, C3, C4A, C4B, C5orf42, C8orf37, CA1, CA2, CASP10, CASR, CC2D2A, CCBE1, CCDC28B, CCL2, CCNQ, CD151, CD2AP, CD46, CD81, CD96, CDC42, CDC5L, CDC73, CDK10, CDK20, CDKN1C, CENPF, CEP104, CEP120, CEP164, CEP290, CEP41, CEP55, CEP83, CFB, CFH, CFHR1, CFHR2, CFHR3, CFHR4, CFHR5, CFI, CFP, CHD1L, CHD7, CHRM3, CISD2, CIT, CLCN5, CLCN7, CLCNKA, CLCNKB, CLDN10, CLDN16, CLDN19, CNNM2, COL4A1, COL4A3, COL4A4, COL4A5, COL4A6, COPA, COQ2, COQ4, COQ6, COQ7, COQ8A, COQ8B, COQ9, CPT1A, CRB2, CRKL, CSPP1, CTH, CTLA4, CTNS, CTU2, CUBN, CUL3, CYP24A1, DACH1, DACT1, DCDC2, DCHS1, DDX59, DGKE, DHCR7, DLC1, DMP1, DNAJB11, DNASE1, DSTYK, DVL1, DVL3, DYNC2H1, DYNC2L1, DZIP1L, EGF, EHHADH, EMP2, ENPP1, EP300, ESCO2, ETTA, ETFB, ETFDH, ETV4, EXOC8, EYA1, FAH, FAM20A, FAN1, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCI, FAS, FASLG, FAT1, FAT4, FCGR2A, FCGR3A, FGA, FGF10, FGF20, FGF23, FGFR2, FGFR3, FLCN, FLNA, FMN1, FN1, FOXI1, FOXP1, FRAS1, FREM1, FREM2, FUZ, FXYD2, G6PD, GANAB, GAPVD1, GATA3, GCM2, GDF11, GEMIN4, GLA, GLI3, GLIS2, GLIS3, GNA11, GPC3, GPHN, GREB1L, GRHPR, GRIP1, H19, HAAO, HAS2, HES7, HGD, HNF1A, HNF1B, HNF4A, HOGA1, HPRT1, HPSE2, HSD11B2, HSD17B4, HSPA9, IFT122, IFT140, IFT172, IFT27, IFT43, IFT46, IFT52, IFT74, IFT80, IFT81, INF2, INPP5E, INTU, INVS, IQCB1, IRF5, ITGA3, ITGA8, ITGAM, ITGB4, ITS1N1, ITS2N2, JAG1, JAM3, KANK1, KANK2, KANK4, KAT6B, KCNA1, KCNJ1, KCNJ10, KCNJ15, KCNJ16, KCTD1, KIAA0556, KIAA0586, KIAA0753, KIF14, KIF7, KLHL3, KMT2D, KYNU, LAGE3, LAMA5, LAMB2, LCAT, LMNA, LMX1B, LRIG2, LRP2, LRP4, LRP5, LYZ, LZTFL1, MAD2L2, MAFB, MAGED2, MAGI2, MAPKBP1, MBTPS2, MCM5, MKS1, MMACHC, MNX1, MOCOS, MOCS1, MUC1, MYCN, MYH9, MYO1E, NAA10, NCPAG2, NDUFAF3, NDUFB8, NDUFS2, NEK1, NEK8, NEU1, NFIA, NIPBL, NOS1AP, NOTCH2, NPHP1, NPHP3, NPHP4, NPHS1, NPHS2, NR3C2, NR1P1, NSDHL, NUP107, NUP133, NUP160, NUP205, NUP85, NUP93, NXF5, NXN, OCRL, OFD1, OPLAH, OSGEF, PAX2, PAX8, PBX1, PCBD1, PCSK5, PDE6D, PDS1, PDS2, PEX1, PEX10, PEX11B, PEX12, PEX13, PEX14, PEX16, PEX19, PEX2, PEX26, PEX3, PEX5, PEX6, PGM3, PHEX, PHGDH, PIBF1, PIEZO2, PIGN, PIGT, PKD1, PKD2, PKHD1, PLA2R1, PLCE1, PMM2, PODXL, PORCN, PRKCD, PRKCSH, PRPS1, PTEN, PTPN22, PTPRO, PUF60, RAD21, RAI1, RARRES1, REN, RERE, RET, RFWD3, RMND1, RNU4ATAC, ROBO2, ROR2, RPRGRI1L, RPL26, SALL1, SALL4, SARS2, SCARB2, SCNN1A, SCNN1B, SCNN1G, SDCCAG8, SEC61A1, SEC61B, SEC63, SEMA3E, SF3B4, SGPL1, SI, SIX1, SIX2, SIX5, SLC12A1, SLC12A2, SLC12A3, SLC12A7, SLC22A12, SLC26A1, SLC26A7, SLC2A2, SLC2A9, SLC34A1, SLC34A3, SLC36A2, SLC3A1, SLC41A1, SLC4A1, SLC4A2, SLC4A4, SLC5A1, SLC5A2, SLC6A19, SLC6A20, SLC7A7, SLC7A9, SLC9A3R1, SLIT2, SMARCA1, SNRPB, SON, SOX11, SOX17, SPRY2, SRGAP1, STAT1, STAT4, STK11, STRA6, STS, SUFU, SYNPO, TBC1D24, TBC1D8B, TBX18, TBX4, TBXT, TCTN1, TCTN2, TCTN3, TFAP2A, THBD, THOC6, TMEM107, TMEM138, TMEM216, TMEM231, TMEM237, TMEM260, TMEM67, TNFSF4, TNIP1, TNS2, TNXB, TP53RK, TP63, TPRKB, TRAF3IP1, TRAP1, TREX1, TRIM32, TRIP11, TRPC6, TRPM6, TRPS1, TRRAP, TSC1, TSC2, TTC21B, TTC37, TTC8, TXNDC15, TXNL4A, UMOD, UPK3A, USP8, VANGL1, VANGL2, VDR, VHL, VIPAS39, VPS33B, VTN, WDPCC, WDR19, WDR34, WDR35, WDR60, WDR72, WDR73, WFS1, WNK1, WNK4, WNT3, WNT4, WNT5A, WNT7A, WT1, XDH, XPNPEP3, XPO5, XRCC2, XRCC4, ZAP70, ZIC3, ZMPSTE24, ZNF148, ZNF365, ZNF423

datos genómicas, sujeta a cambios a medida que aparezcan nuevas evidencias científicas.

Los genes incluidos en esta prueba han sido seleccionados sobre una base clínica de acuerdo con su relación con un fenotipo particular y clasificados con fundamento en la evidencia que respalda esta asociación mediante el uso de diferentes fuentes, incluidas bases de datos y publicaciones científicas. La presencia de variantes que no alcanzan los parámetros óptimos de calidad, bien porque presenten baja cobertura, por localizarse en regiones de alta homología u otra peculiaridad técnica se confirmarán mediante pruebas complementarias como secuenciación Sanger o *Multiplex Ligation dependent Probe Amplification* (MLPA).

De manera particular, este diseño enriquece regiones intergénicas en los genes *CFH* y *CD46*, lo que permite inferir los haplotipos de riesgo del factor H y MCP (del inglés *membrane cofactor protein*, gen regulador del complemento) en relación con el desarrollo del síndrome urémico hemolítico atípico (SHUa)<sup>12,13</sup>.

Adicionalmente se han introducido sondas de captura en la región *Variable Number of Tandem Repeats* (VNTR) de *MUC1*, susceptible a presentar la variante patogénica más prevalente en este gen vinculada al desarrollo de nefropatía túbulo-intersticial autosómica dominante (NTAD)<sup>14</sup>. La cobertura horizontal de esta región altamente repetitiva, junto con una elevada profundidad de lectura permite detectar cambios en la secuencia nucleotídica que deberán ser, en cualquier caso, confirmados por técnicas complementarias como secuenciación Sanger o en los casos sugestivos de ser causa por defectos en *MUC1* llevar a cabo la técnica *SNapShot*<sup>15</sup>.

A pesar de la alta sensibilidad y especificidad de esta prueba para los 529 genes seleccionados, existen algunas limitaciones de la misma cuando ocurren las siguientes situaciones: presencia de mosaicismo y variantes somáticas cuyas bajas frecuencias pueden no ser identificadas, presencia de reordenamientos cromosómicos complejos, translocaciones balanceadas e inversiones que alteran la cigosidad de variantes, variantes genéticas que producen abandonos alélicos, presencia de pseudogenes o regiones homólogas, identificación incorrecta de variantes en homopolímero o zonas con alto contenido de guanina y citosina (GC) y errores en la secuencia de referencia.

## Objetivos

Siguiendo las guías KDIGO de la ERC que indican que se debe identificar la causa de la ERC y categorizar el riesgo mediante la determinación del FGe y la albuminuria, el objetivo principal del estudio GENSEN es ofrecer un diagnóstico potencialmente etiológico a pacientes jóvenes con ERC categoría G5 sin filiación etiológica previa. Un correcto diagnóstico debe permitir un mayor conocimiento de su enfermedad (pronóstico personal y familiar) y un manejo personalizado (tratamientos dirigidos, ensayos clínicos).

Este proyecto abre la puerta también a conocer las correlaciones de fenotipo – genotipo de la población estudiada. En el caso de evidenciar una clara asociación entre la presentación clínica, histológica y/o historia familiar con las diferentes variantes patogénicas encontradas permitiría una aproximación diagnóstica más dirigida en el futuro, con posibilidad de



un diagnóstico precoz y tratamientos individualizados de las diferentes patologías.

Además, en el caso de conseguir el análisis de un gran número de pacientes a lo largo de todo el estado, el estudio dará una información muy valiosa respecto al porcentaje de personas con enfermedades renales hereditarias en nuestro medio (infradiagnosticadas hasta la fecha), las patologías hereditarias y variantes génicas más frecuentes, así como las posibles diferencias interterritoriales de dichos hallazgos.

Finalmente, evaluar el rendimiento de esta aproximación diagnóstica es el primer paso para introducir las técnicas de secuenciación de ADN para el diagnóstico etiológico de la ERC en todas las unidades de nefrología del país, especialmente cuando la historia clínica y/o familiar lo sugieran, pero también para pacientes sin un diagnóstico etiológico claro.

## Discusión

El proyecto GENSEN supone un hito en la Nefrología española, se enmarca dentro de las líneas estratégicas de la S.E.N. y evidencia una necesidad ya incorporada en las guías de práctica clínica. Entre los objetivos definidos por el proyecto, la posibilidad de alcanzar un diagnóstico etiológico de certeza en pacientes con enfermedades renales no filiadas con anterioridad permitirá alcanzar diversos beneficios.

En primer lugar, la determinación etiológica de una enfermedad renal puede modificar la historia natural de algunas patologías que tienen un tratamiento específico (p. ej., la enfermedad de Fabry, la hiperoxaluria primaria o la cistinosis), así como evitar un sobretratamiento en algunas de ellas, en muchas ocasiones etiquetadas erróneamente (como la enfermedad de Alport, que no dispone de un manejo específico actualmente pero que, de manera frecuente, se diagnostica como una glomeruloesclerosis focal y segmentaria condicionando un tratamiento fútil con inmunosupresores). De hecho, a la cabeza de los diagnósticos etiológicos en la ERC se encuentra la nefroangioesclerosis o nefropatía hipertensiva. Actualmente sabemos que no pocos casos de nefroangioesclerosis presentan un diagnóstico erróneo<sup>16</sup> achacando a dicha patología el deterioro de la función renal, pero que en realidad obedece a causas hereditarias (no diagnosticadas) como las alteraciones de los genes del colágeno (enfermedad de Alport)<sup>17</sup> o de la uromodulina (nefropatía tubulointersticial autosómica dominante)<sup>18</sup>. Recientemente, la inaxaplina, un fármaco que inhibe la actividad de canal en membranas intracelulares de las proteínas codificadas por las variantes de alto riesgo de APOL1, disminuyó la proteinuria de pacientes con estas variantes, poniendo el foco patogénico en el podocito<sup>19</sup>. La presencia de variantes de alto riesgo de APOL1 explica la alta prevalencia de la mal llamada nefropatía hipertensiva en afroamericanos.

En segundo lugar, se previenen las recurrencias en el momento del trasplante renal de patologías tales como el síndrome hemolítico urémico atípico o la hiperoxaluria primaria, que actualmente gozan de tratamientos específicos como eculizumab o ravulizumab para el primero<sup>20,21</sup> o lumasiran para el segundo<sup>22</sup>.

En tercer lugar, el diagnóstico etiológico permite realizar un cribado de manifestaciones extrarrenales como en el caso de la poliquistosis renal autosómica dominante (aneurismas intracraneales), en la nefropatía por PX2 (afectación ocular), en las formas recesivas y ligadas al X del Alport (afectación ocular y auditiva), etc.

Finalmente, el diagnóstico de una enfermedad renal hereditaria posibilita la oferta de un consejo genético a los pacientes, con la consecuente recomendación reproductiva<sup>23</sup>.

Estudios previos realizados en cohortes con nefropatía no filiada han demostrado un alcance diagnóstico variable entre 10 y 40%<sup>24,25</sup>. Además, la identificación y clasificación de variantes puede permitir reclasificar a pacientes que previamente habían recibido el diagnóstico de «variante de significado incierto».

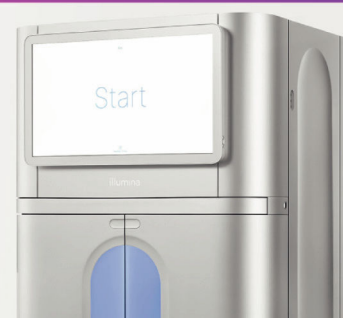
Aunque la realización de una prueba genética para el diagnóstico etiológico presenta como limitación más relevante el coste (fig. 1), también supone una oportunidad de trabajo multidisciplinar, ya que requiere de un entendimiento entre genetistas y nefrólogos. Las nuevas aplicaciones de las tecnologías de HTS permiten unificar diferentes análisis en una sola prueba que disminuya el coste asociado a diferentes técnicas aplicadas y recursos empleados. Adicionalmente, la HTS ofrece un campo muy amplio de estrategias mejoradas que admite su implementación de manera continua, por ejemplo, incluyendo nuevas regiones de interés para el análisis genético. Dentro de las indicaciones más destacadas para la solicitud del mismo, las guías KDIGO 2022 recomiendan su realización en caso de historia familiar, desarrollo de ERC precoz, consanguinidad, manifestaciones o fenotipo sindrómico, en el donante vivo, como alternativa a una biopsia renal cuando esta no puede llevarse a cabo, como guía para determinados tratamientos, en riesgo de recurrencia en el trasplante o como información pronóstica en algunas patologías. En Francia, el diagnóstico genético se ofrece gratuitamente a los pacientes de todo el territorio nacional con ERC de causa incierta menores de 46 años<sup>26</sup>.

En cualquier caso, teniendo en cuenta los costes derivados del inicio de una terapia renal sustitutiva (inherentes a la técnica y complicaciones derivadas), y desde un punto de vista coste-eficiente, el diagnóstico etiológico de una nefropatía con un potencial tratamiento también supone un beneficio superior a la mera progresión de la enfermedad renal sin terapia. En realidad, el solo hecho de diagnosticar una ERC (haciendo un cribado de albuminuria) ha demostrado recientemente ser coste-efectivo, con independencia de la etiología de la nefropatía, comprobando que solo las medidas generales para evitar la progresión de la ERC presentan un beneficio económico directo<sup>27</sup>.

Nuestro estudio no está exento de algunas limitaciones metodológicas como, por ejemplo, su diseño observacional, siendo imposible éticamente proponer un ensayo clínico. Además, se trata de un estudio voluntario en el que cada centro participante recluta a los pacientes con criterios de inclusión. Entre estos, se incluye que el sujeto manifieste una etiología no filiada de la ERC, lo que puede presentar cierta heterogeneidad en función de las técnicas disponibles en los diferentes centros (biomarcadores, estudios genéticos, biopsia renal, tinciones). Para intentar paliar esta

# Estudio GENSEN

Una aproximación tecnológica diferencial hacia una medicina de precisión



## EVOLUCIÓN DE LAS TÉCNICAS



## COMPARACIÓN DE LAS TÉCNICAS

Con el paso de los años, hemos observado cómo los avances tecnológicos nos han ayudado a unificar las diferentes técnicas para poder evaluar todo bajo una única secuenciación. A continuación, presentamos una comparativa de la tecnología utilizada para el estudio GENSEN (HTS con librería customizada) frente al exoma dirigido, así como las limitaciones encontramos en cada uno.

EXOMA DIRIGIDO	HTS CON LIBRERÍA CUSTOMIZADA
El exoma captura genes no asociados a la patología del paciente que requieren adaptación del CI.	Dirigido a un conjunto de genes relacionados con la indicación clínica del paciente.
Captura de regiones intrónicas a +/- 20 pb de las regiones codificantes.	Enriquecimiento de las regiones intrónicas a +/- 50 pb de las regiones codificantes.
Profundidad de lectura media: 100x.	Mayor cobertura horizontal y profundidad de lectura (cobertura media >500x + cobertura horizontal a 30x >99%).
No captura regiones profundamente intrónicas o intergénicas.	Enriquecimiento de regiones diana profundamente intrónicas o intergénicas de interés.
Permite analizar CNVs.	Análisis de CNVs con un software patentado.
Baja sensibilidad para detectar mosaicismos.	Mayor sensibilidad para la detección de mosaicismos.
Permite capturar genes no seleccionados que podrían asociarse posteriormente a enfermedad renal.	<b>Limitaciones</b> No permite capturar genes no seleccionados que podrían asociarse posteriormente a enfermedad renal.
El reanálisis de los datos no requiere secuenciar de nuevo la muestra.	El reanálisis de los datos requiere secuenciar de nuevo la muestra.

**Figura 1 – Técnicas de secuenciación y estudio GENSEN. Columna izquierda: evolución de las técnicas de secuenciación de ADN. Columna derecha: comparación de las técnicas de secuenciación más usadas. HTS: secuenciación masiva de alto rendimiento (High Throughput Sequencing).**

limitación, se ha decidido incluir a personas con una progresión a ERC categoría G5 a edad temprana (< 46 años), siendo esta la cohorte en la que existe mayor prevalencia de enfermedades hereditarias. Las fortalezas de este estudio incluyen la repercusión de los resultados para favorecer el conocimiento de las enfermedades renales hereditarias e impulsar el diagnóstico genético a través de la colaboración

con los especialistas de dicha disciplina, con claro beneficio pronóstico de los pacientes, superando las referidas limitaciones.

En conclusión, el proyecto GENSEN es un estudio multicéntrico pionero que tiene por objetivo primario determinar la etiología de la ERC en pacientes jóvenes en los que no se disponga de un diagnóstico etiológico de certeza.

## Financiación

El estudio GENSEN está promovido por la Sociedad Española de Nefrología (S.E.N.) y financiado por AstraZeneca, Alexion, Chiesi y Alnylam, con ayudas no condicionadas.

La investigación de MB está financiada por Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) RICORS program to RICORS2040 (RD21/0005/0001) funded by European Union – NextGenerationEU, Mecanismo para la Recuperación y la Resiliencia (MRR) y PI PI22/00240, Fundació la Marató de TV3 202026-10.

La investigación de AO está financiada por Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) RICORS program to RICORS2040 (RD21/0005/0001) funded by European Union – NextGenerationEU, Mecanismo para la Recuperación y la Resiliencia (MRR) and SPACKDc PMP21/00109, FEDER funds y COST Action PER-MEDIK CA21165, supported by COST (European Cooperation in Science and Technology). PREVENTCKD Consortium. Project ID: 101101220 Programme: EU4H. DG/Agency: HADEA: 2023-2024.

La investigación de RT está financiada por Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) RICORS program to RICORS2040 (RD21/0005/0001) funded by European Union – NextGenerationEU, Mecanismo para la Recuperación y la Resiliencia (MRR) and PI22/00361, Fundació la Marató de TV3 202036-30.

## Conflicto de intereses

M. Blasco es vocal de la actual junta de la S.E.N. y ha recibido honorarios por ponencias, *advisory boards* y financiación para asistir a cursos y congresos por parte de Otsuka, Chiesi, Novartis y Alexion en los últimos 36 meses.

B. Quiroga es el actual secretario de la S.E.N. y ha recibido pagos por ponencias y financiación para asistir a cursos y congresos por parte de Vifor-Pharma, Astellas, Amgen, Bial, Ferrer, Novartis, AstraZeneca, Sandoz, Laboratorios Bial, Esteve, Sanofi-Genzyme, Otsuka en los últimos 36 meses.

A. Ortiz es coordinador del ERA Registry. A. Ortiz ha recibido becas de Sanofi y pagos como consultor o por ponencias o financiación para viajes por parte de Advicene, Alexion, Astellas, Astrazeneca, Amicus, Amgen, Boehringer Ingelheim, Fresenius Medical Care, GSK, Bayer, Sanofi-Genzyme, Menarini, Mundipharma, Kyowa Kirin, Lilly, Freeline, Idorsia, Chiesi, Otsuka, Novo-Nordisk, Sysmex y Vifor Fresenius Medical Care Renal Pharma. yEs el Director de la Cátedra UAM – AstraZeneca en Enfermedad Renal Crónica y Alteraciones hidroelectrolíticas. Posee acciones de Telara Farma.

P. de Sequera es la presidenta de la S.E.N. y ha recibido pagos por ponencias y financiación para asistir a cursos y congresos por parte de Vifor Pharma, Amgen, Fresenius, Nipro, Astra Zeneca, Braun, Baxter, GSK y Astellas.

R. Torra es la presidenta electa de la European Renal Association y ha recibido pagos por ponencias y financiación para asistir a cursos y congresos por parte de Sanofi-Genzyme, Takeda, Amicus, Chiesi, Kyowa-Kirin, Astra-Zeneca, Alnylam, Alexion, Otsuka.

J.M. García-Aznar es empleado de Healthincode.

## Anexo. Material adicional

Se puede consultar material adicional a este artículo en su versión electrónica disponible en [doi:10.1016/j.nefro.2023.09.002](https://doi.org/10.1016/j.nefro.2023.09.002).

## BIBLIOGRAFÍA

1. GBD Chronic Kidney Disease Collaboration. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2020;395:709–33, [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30045-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30045-3).
2. Ortiz A, Asociación Información Enfermedades Renales Genéticas (AIRG-E), European Kidney Patients' Federation (EKPF), Federación Nacional de Asociaciones para la Lucha Contra las Enfermedades del Riñón (ALCER), Fundación Renal Íñigo Álvarez de Toledo (FRIAT), Red de Investigación Renal (REDINREN), et al. RICORS2040: the need for collaborative research in chronic kidney disease. *Clin Kidney J*. 2021;15:372–87, <http://dx.doi.org/10.1093/ckj/sfab170>.
3. Jager KJ, Kovesdy C, Langham R, Rosenberg M, Jha V, Zoccali C. A single number for advocacy and communication-worldwide more than 850 million individuals have kidney diseases. *Nephrol Dial Transplant*. 2019;34:1803–5.
4. Thompson S, James M, Wiebe N, Hemmelgarn B, Manns B, Klarenbach S, et al. Alberta Kidney Disease Network. Cause of Death in Patients with Reduced Kidney Function. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26:2504–11, <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2014070714>.
5. Registro Español de Enfermos Renales (REER). Informe 2021 (datos preliminares) [consultado el 9 de julio de 2023]. Disponible en: <https://www.ont.es/wp-content/uploads/2023/01/MEMORIA-REER-2021-PRELIMINAR.pdf>
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;380:142–51, <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1806891>.
7. Gansevoort RT, Arici M, Benzing T, Birn H, Capasso G, Covic A, et al. Recommendations for the use of tolvaptan in autosomal dominant polycystic kidney disease: a position statement on behalf of the ERA-EDTA Working Groups on Inherited Kidney Disorders and European Renal Best Practice. *Nephrol Dial Transplant*. 2016;31:337–48, <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfv456>.
8. Snoek R, Stokman MF, Lichtenbelt KD, van Tilborg TC, Simcox CE, Paulussen ADC, et al. Preimplantation genetic testing for monogenic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2020;15:1279–86, <http://dx.doi.org/10.2215/CJN.03550320>.
9. KDIGO Conference Participants. Genetics in chronic kidney disease: conclusions from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int*. 2022;101:1126–41, <http://dx.doi.org/10.1016/j.kint.2022.03.019>.
10. D. de Una. System and Method to Detect Structural Genetic Variants, OEPM (Oficina Española de Patentes y Marcas), Madrid, 2019, p. 201731242. Disponible en: <https://consultas2.oepm.es/InvenesWeb/detalle?p=1&referencia=P201731242>
11. 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*. 2015;17:405–24, <http://dx.doi.org/10.1038/gim.2015.30>.

12. Goodship TH, Cook HT, Fakhouri F, Fervenza FC, Frémeaux-Bacchi V, Kavanagh D, et al. Atypical hemolytic uremic syndrome and C3 glomerulopathy: conclusions from a «Kidney Disease: Improving Global Outcomes» (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int.* 2017;91:539–51, <http://dx.doi.org/10.1016/j.kint.2016.10.005>.
13. Esparza-Gordillo J, Jorge EG, Garrido CA, Carreras L, Lopez-Trascasa M, Sanchez-Corral P, et al. Insights into hemolytic uremic syndrome: segregation of three independent predisposition factors in a large, multiple affected pedigree. *Mol Immunol.* 2006;43:1769–75, <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2005.11.008>.
14. Ayasreh N, Bullich G, Miquel R, Furlano M, Ruiz P, Lorente L, et al. Autosomal Dominant Tubulointerstitial Kidney Disease: Clinical Presentation of Patients With ADTKD-UMOD and ADTKD-MUC1. *Am J Kidney Dis.* 2018;72:411–8, <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2018.03.019>.
15. Knap KX, Hackenbeck T, Popp B, Stoeckert J, Wenzel A, Büttner-Herold M, et al. Biallelic Expression of Mucin-1 in Autosomal Dominant Tubulointerstitial Kidney Disease: Implications for Nongenetic Disease Recognition. *J Am Soc Nephrol.* 2018;29:2298–309, <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2018030245>.
16. Carriazo S, Perez-Gomez MV, Ortiz A. Hypertensive nephropathy: a major roadblock hindering the advance of precision nephrology. *Clin Kidney J.* 2020;13:504–9, <http://dx.doi.org/10.1093/ckj/sfaa162>.
17. Savige J, Harraka P. Pathogenic Variants in the Genes Affected in Alport Syndrome (COL4A3-COL4A5) and Their Association With Other Kidney Conditions: A Review. *Am J Kidney Dis.* 2021;78:857–64, <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2021.04.017>.
18. Olinger E, Hofmann P, Kidd K, Dufour I, Belge H, Schaeffer C, et al. Clinical and genetic spectra of autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease due to mutations in UMOD and MUC1. *Kidney Int.* 2020;98:717–31, <http://dx.doi.org/10.1016/j.kint.2020.04.038>.
19. Egbuna O, Zimmerman B, Manos G, Fortier A, Chirieac MC, Dakin LA, et al. Inaxaplin for Proteinuric Kidney Disease in Persons with Two APOL1 Variants. *N Engl J Med.* 2023;388:969–79, <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2202396>.
20. Duineveld C, Bouwmeester RN, Wijnsma KL, Bemelman FJ, van der Heijden JW, Berger SP, et al. Eculizumab Rescue Therapy in Patients With Recurrent Atypical Hemolytic Uremic Syndrome After Kidney Transplantation. *Kidney Int Rep.* 2023;8:715–26, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ekir.2023.01.016>.
21. Begum F, Khan N, Boisclair S, Malieckal DA, Chitty D. Complement Inhibitors in the Management of Complement-Mediated Hemolytic Uremic Syndrome and Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *Am J Ther.* 2023;30:e209–19, <http://dx.doi.org/10.1097/MJT.0000000000001609>.
22. Lombardi Y, Isnard P, Chavarot N, Chauvet S, Martinez F, Thervet É, et al. Stiripentol and Lumasiran as a Rescue Therapy for Oxalate Nephropathy Recurrence After Kidney Transplantation in an Adult Patient With Primary Hyperoxaluria Type 1. *Am J Kidney Dis.* 2023;82:113–6, <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2022.12.005>.
23. Snoek R, van der Graaf R, Meinders JR, van Reekum F, Bloemenkamp KWM, Knoers NVAM, et al. Pregnancy in Advanced Kidney Disease: Clinical Practice Considerations on a Challenging Combination. *Nephron.* 2020;144:185–9, <http://dx.doi.org/10.1159/000505781>.
24. Snoek R, van Jaarsveld RH, Nguyen TQ, Peters EDJ, Elferink MG, Ernst RF, et al. Genetics-first approach improves diagnostics of ESKD patients < 50 years old. *Nephrol Dial Transplant.* 2022;37:349–57, <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfaa363>.
25. 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;95:914–28, <http://dx.doi.org/10.1016/j.kint.2018.10.031>.
26. Doreille A, Villié P, Mesnard L. National survey on genetic test prescription in French adult nephrologists: a call for simplification and education. *Clin Kidney J.* 2022;15:1213–5, <http://dx.doi.org/10.1093/ckj/sfac041>.
27. Cusick MM, Tisdale RL, Chertow GM, Owens DK, Goldhaber-Fiebert JD. Population-Wide Screening for Chronic Kidney Disease: A Cost-Effectiveness Analysis. *Ann Intern Med.* 2023;176:788–97, <http://dx.doi.org/10.7326/M22-3228>.