

Lek. Marcin Kołbuc

Zaburzenia homeostazy magnezu i kwasu moczowego
u dzieci z wadami nerek i układu moczowego na
podłożu mutacji genu *HNF1B*

Rozprawa doktorska w oparciu o cykl publikacji naukowych
w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne

Katedra Pediatrii
Instytut Nauk Medycznych, Collegium Medicum
Uniwersytet Zielonogórski

Promotor

Dr hab. n. med. Marcin Zaniew
Katedra Pediatrii, Instytut Nauk Medycznych
Collegium Medicum
Uniwersytet Zielonogórski

Zielona Góra 2021

Spis treści

Rozdział 1. Wykaz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej	3
Rozdział 2. Wykaz zastosowanych skrótów.....	4
Rozdział 3. Streszczenie w języku polskim.....	5-8
Rozdział 4. Streszczenie w języku angielskim.....	9-11
Rozdział 5. Wprowadzenie.....	12-18
Rozdział 6. Cel pracy.....	19
Rozdział 7. Komentarz do pracy: <i>Hypomagnesemia is underestimated in children with HNF1B mutations</i>	20-23
Rozdział 8. Komentarz do pracy: <i>Four Cases of Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY) Type 5 Associated with Mutations in the Hepatocyte Nuclear Factor 1 Beta (HNF1B) Gene Presenting in a 13 Year-Old Boy and in Adult Men Aged 33, 34, and 35 Years in Poland</i>	24-25
Rozdział 9. Komentarz do pracy: <i>Hyperuricemia Is an Early and Relatively Common Feature in Children with HNF1B Nephropathy but Its Utility as a Predictor of the Disease Is Limited</i>	26-30
Rozdział 10. Wnioski.....	31-32
Rozdział 11. Piśmiennictwo.....	33-37

Rozdział 1.

Wykaz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej

1/ Kołbuc M[#], Leśmeier L, Salamon-Słowińska D, Małecka I, Pawlaczyk K, Walkowiak J, Wysocki J, Beck BB, Zaniew M. *Hypomagnesemia is underestimated in children with HNF1B mutations.*

Pediatr Nephrol. 2020 Oct;35(10):1877-1886. doi: 10.1007/s00467-020-04576-6.

IF 3.714; MNiSW 140 pkt.

#autor korespondujący

2/ Motyka R, Kołbuc M[#], Wierzchołowski W, Beck BB, Towpik IE, Zaniew M. *Four Cases of Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY) Type 5 Associated with Mutations in the Hepatocyte Nuclear Factor 1 Beta (HNF1B) Gene Presenting in a 13-Year-Old Boy and in Adult Men Aged 33, 34, and 35 Years in Poland.*

Am J Case Rep. 2021 Feb 2;22:e928994. doi: 10.12659/AJCR.928994.

IF 0.74; MNiSW 70 pkt.

#autor korespondujący

3/ Kołbuc M[#], Bieniaś B, Habbig S, Kołek MF, Szczepańska M, Kiliś-Pstrusińska K, Wasilewska A, Adamczyk P, Motyka R, Tkaczyk M, Sikora P, Beck BB, Zaniew M. *Hyperuricemia Is an Early and Relatively Common Feature in Children with HNF1B Nephropathy but Its Utility as a Predictor of the Disease Is Limited.*

J Clin Med. 2021 Jul 24;10(15):3265. doi: 10.3390/jcm10153265.

IF 4.241; MNiSW 140 pkt.

#autor korespondujący

Rozdział 2.

Wykaz zastosowanych skrótów

CAKUT – (ang. *congenital anomalies of the kidneys and urinary tract*) wrodzone wady nerek i układu moczowego

FEMg – (ang. *fractional excretion of magnesium*) frakcyjne wydalanie magnezu

FEUA – (ang. *fractional excretion of uric acid*) frakcyjne wydalanie kwasu moczowego

HNF1B – (ang. *hepatocyte nuclear factor 1B gene*) gen *HNF1B*

HNF1 β – (ang. *hepatocyte nuclear factor 1 β*) hepatocytowy czynnik jądrowy 1 β

HNF1B-MODY – cukrzyca MODY na podłożu mutacji genu *HNF1B*

IG – (ang. *information gain*) – zysk informacyjny

MODY5 – (ang. *Maturity Onset Diabetes of the Young type 5*) cukrzyca MODY typ 5

OAT 1 – (ang. *organic acid transporter type 1*) transporter anionów organicznych 1

OAT 3 - (ang. *organic acid transporter type 3*) transporter anionów organicznych 3

PTH – stężenie parathormonu w surowicy krwi

sMg – (ang. *serum magnesium*) stężenie magnezu w surowicy krwi

sUA – (ang. *serum uric acid*) stężenie kwasu moczowego w surowicy krwi

Rozdział 3.

Streszczenie

Mutacje w genie *HNF1B* są jedną z najczęstszych przyczyn genetycznych wrodzonych wad nerek i układu moczowego (CAKUT). Produktem tego genu jest czynnik transkrypcyjny HNF1 β , który jest niezbędny w procesie organogenezy, m.in. nerek. Jego ekspresję wykazano również w zawiązkach trzustki, wątroby i narządów płciowych, stąd pacjenci, poza szerokim fenotypem nerkowym, prezentują również szereg nieprawidłowości pozanerkowych, wśród których do najczęstszych należą: cukrzyca MODY typu 5 (*HNF1B*-MODY), wady i zaburzenia egzokrynnej funkcji trzustki, zaburzenia wątrobowe, wady narządów płciowych, zaburzenia neurologiczno-psychiatryczne, dna moczanowa/hiperurykemia oraz hipomagnezemia.

Mając na względzie różnorodny obraz kliniczny nefropatii *HNF1B* i związane z tym trudności diagnostyczne, podjęto wiele prób stworzenia narzędzia klinicznego mającego wspomóc klinicystów w selekcji pacjentów, u których należy wykonać potwierdzające rozpoznanie badania molekularne. Do aktualnie stosowanych narzędzi diagnostycznych należą kryteria zaproponowane przez Faguer'a i wsp. oraz Raaijmakers i wsp. W obu przypadkach bazują one na fenotypie nerkowym, wywiadzie rodzinnym oraz obecności/braku zaburzeń pozanerkowych. Niestety, w/w kryteria zostały opracowane na mieszanej populacji osób dorosłych i dzieci przy zastosowaniu norm dla dorosłych, przy określaniu definicji takich zaburzeń jak hipomagnezemia i hiperurykemia. Biorąc pod uwagę zależną od wieku zmienność

parametrów biochemicznych oraz dynamiczny charakter choroby, w ocenie w/w zaburzeń u dzieci z podejrzeniem mutacji *HNF1B* należy zwrócić szczególną uwagę na zastosowanie aktualnych, odpowiednich dla wieku i niekiedy także dla płci, norm laboratoryjnych. Prawidłowe zdefiniowanie tych zaburzeń, jak również określenie częstości ich występowania, jest niezbędne do optymalnego wykorzystania jakichkolwiek narzędzi diagnostycznych z ich użyciem. Przegląd literatury co do częstości występowania zaburzeń magnezu czy kwasu moczowego u pacjentów z mutacjami *HNF1B* wskazuje, że w obu przypadkach występuje wśród autorów swego rodzaju dowolność w zastosowaniu wartości referencyjnych. Czynnikiem dodatkowo utrudniającym analizę częstości występowania hipomagnezemii i hiperurykemii jest retrospektywny charakter wielu badań, jak i różne stadium zaawansowania przewlekłej choroby nerek w badanych grupach chorych czy też brak grupy kontrolnej. Wszystkie wyżej wymienione aspekty mogą finalnie sprawiać, że faktyczna częstość tych zaburzeń została niedoszacowana lub przeszacowana.

Analiza danych przedstawiona w tym cyklu publikacji (*prace 1 i 3*) została przeprowadzona w grupie pacjentów pediatrycznych z nefropatią *HNF1B* z nieznacznie/umiarkowanie upośledzoną czynnością nerek (stadium I-III przewlekłej choroby nerek), z uwzględnieniem najnowszych pediatrycznych norm laboratoryjnych dla magnezu i kwasu moczowego w surowicy. Pozwoliło to w wiarygodny sposób ocenić częstość występowania hipomagnezemii i hiperurykemii w grupie dzieci z CAKUT na podłożu defektu genu *HNF1B*.

Opublikowano wiele prac udowadniających powiązanie hiperurykemii i mutacji *HNF1B*. Jednakże do tej pory nie przedstawiono

mocnych dowodów dla tej zależności. Zgodnie z naszą wiedzą, po raz pierwszy udowodniliśmy związek przyczynowy pomiędzy hiperurykemią i mutacją *HNF1B*, wykazując 3-krotnie częstsze występowanie tego zaburzenia u dzieci z mutacją genu *HNF1B* w porównaniu z grupą dzieci z CAKUT bez mutacji w tym genie (*praca 3*).

Ponadto w *pracy 3* ocenie poddano przydatność kliniczną hipomagnezemii i hiperurykemii jako predyktorów nefropatii *HNF1B*. Dzięki zastosowaniu zaawansowanych analiz statystycznych na grupie 108 pacjentów z CAKUT (z, jak i bez mutacji *HNF1B*) dowiedliśmy, że hipomagnezemia jest bardziej wartościowym markerem predykcyjnym mutacji *HNF1B* niż hiperurykemia. Dodanie tego drugiego parametru do analizowanego modelu predykcyjnego nie zwiększyła jego dokładności, czułości i swoistości. Niespodziewanie wysoki potencjał w przewidywaniu obecności mutacji *HNF1B* wykazuje również nadczynność przytarczyc zdefiniowane jako podwyższone stężenie parathormonu we krwi. Przykładem klinicznym przydatności hipomagnezemii jako predyktora mutacji *HNF1B* jest prezentowana seria 4 przypadków pacjentów z *HNF1B*-MODY5 (*praca 2*).

Podsumowując, dane przedstawione w ramach cyklu publikacji wypełniają wiele luk w dotychczasowej wiedzy na temat choroby związanej z mutacją genu *HNF1B*, a uzyskane wnioski powinny być pomocne w codziennej praktyce klinicznej. W przedstawionych pracach zostały określone częstości najistotniejszych zaburzeń biochemicznych (hipomagnezemii i hiperurykemii) u dzieci oraz ich przydatność w diagnostyce nefropatii *HNF1B*. Uzyskane wyniki stanowią podstawę do dalszych badań nad opracowaniem kryteriów selekcji dzieci z CAKUT do diagnostyki w kierunku mutacji *HNF1B*. Dodatkowo, identyfikacja

nadczynności przytarczyc jako silnego predyktora mutacji *HNFB*
wskazuje nowy kierunek badań.

Rozdział 4.

Streszczenie w języku angielskim

Disorders of magnesium and uric acid homeostasis in children with congenital anomalies of the kidneys and urinary tract with underlying *HNF1B* mutations

Abstract

Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1beta (*HNF1B*) gene are the most common genetic causes of congenital anomalies of the kidneys and urinary tract (CAKUT). The end-product of this gene is the transcriptional factor, HNF1 β , that is essential in kidney development. However, its expression has been confirmed in many organs (e.g. pancreas, liver, and genitals). Hence, as well as variable renal pathology, patients can also present with other clinical features e.g. maturity-onset diabetes of the young (MODY) type 5, pancreatic structural anomalies and exocrine insufficiency, genital tract anomalies, neurological and psychiatric disorders, gout/hyperuricemia, and hypomagnesemia.

Taking the variable phenotypes of *HNF1B* disease into account and possible diagnostic dilemmas, many attempts have been made to create a clinical tool that would facilitate patient selection for molecular testing. Examples of such are the *HNF1B* score developed by Faguer and colleagues and clinical criteria suggested by Raaijmakers et al. In both cases, it is based on renal phenotype, family history, and presence/absence of extrarenal manifestations. Unfortunately, the abovementioned criteria were developed on a mixed population of adults and children, where hypomagnesemia and hyperuricemia definitions were based on reference values designed for adults. None of these can be

accepted for children. Taking into consideration age dependencies of various biochemical parameters and the dynamic nature of the disease, attention must be paid to the utilization of age- and, in some cases, gender-appropriate reference values. Correct definitions of these disorders as well as defining their actual prevalence are vital for optimal usage of any diagnostic tool that is based on them. A search of the literature with respect to serum magnesium (sMg) and uric acid abnormalities in *HNF1B* disease revealed that there is a wide arbitrariness with respect to reference values applied. The retrospective nature of the majority of studies, variable chronic kidney (CKD) disease distribution among the study groups, as well as lack of a control group, are additional factors impeding precise assessment of hypomagnesemia and hyperuricemia prevalence in these patients. All the abovementioned aspects may cause the actual prevalence of these disorders to be under- or overestimated.

The data analysis in this cycle of publications (paper no. 1 and no. 3) was performed in a group of pediatric patients with *HNF1B* nephropathy with mild to moderate kidney failure (CKD stage I–III) and with the use of the newest, pediatric, age- and gender-specific reference values for sMg and uric acid. It made the credible assessment of hypomagnesemia and hyperuricemia possible in children with CAKUT and underlying *HNF1B* mutations.

Many studies have demonstrated an association between hyperuricemia and *HNF1B* mutations. However, to date, no causal relationship has been established. To the best of our knowledge, our study is the first to identify a causal link, by demonstrating hyperuricemia being three times more frequent in children with *HNF1B* mutations when compared with CAKUT children without defects in this gene (paper no.

3). Furthermore, in paper no. 3 the clinical utility of hypomagnesemia and hyperuricemia as predictors of *HNF1B* mutation was assessed. Thanks to advanced statistical analyses in a cohort of 108 CAKUT patients (with and without *HNF1B* mutations) we showed that hypomagnesemia is a more valuable predictive marker of *HNF1B* mutations than hyperuricemia. Adding the latter to our tested model does not increase its accuracy, sensitivity, or specificity. Unexpectedly, hyperparathyroidism defined as elevated serum parathormone (PTH) level was found to have a high potential in predicting the presence of *HNF1B* mutation. An example of hypomagnesemia utility as a predictor of *HNF1B* disease in the clinical setting was demonstrated in our case series of four patients with MODY type 5 (paper no. 2).

In summary, the findings presented in this cycle of publications fill many gaps in the current knowledge on *HNF1B* disease and hopefully should be helpful in everyday clinical practice. In presented studies, the prevalence of the most important biochemical disorders (hypomagnesemia and hyperuricemia), as well as their utility in the diagnosis of *HNF1B* nephropathy, was defined. Our data is a good basis for future research on selection criteria for *HNF1B* testing in children with CAKUT. Additionally, the identification of hyperparathyroidism as a strong predictor of *HNF1B* mutation indicates a new direction of studies.

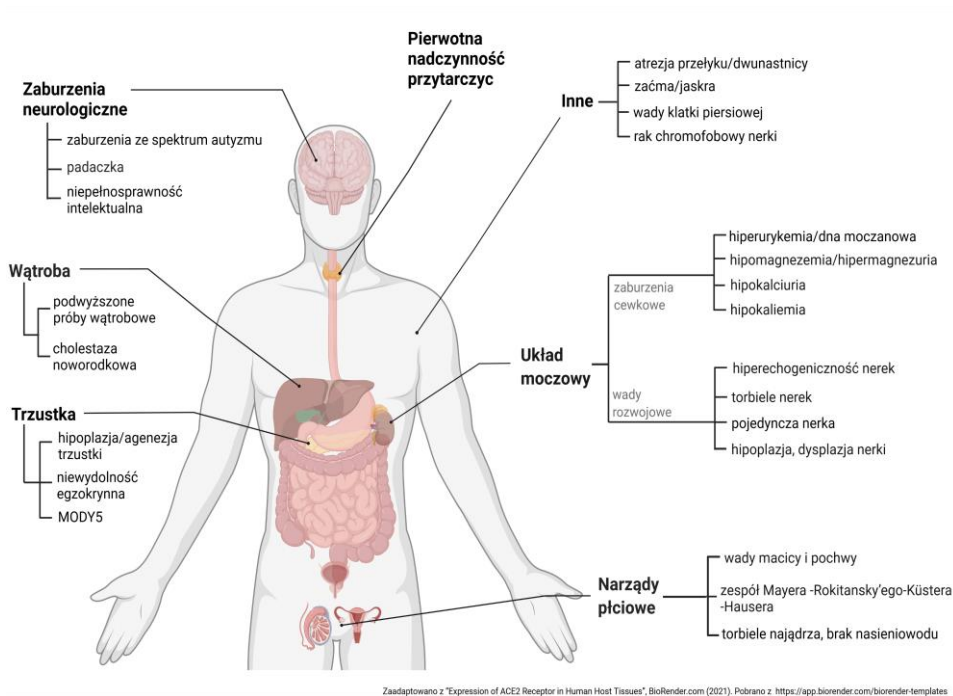
Rozdział 5.

Wprowadzenie

Hepatocytowy czynnik jądrowy 1 β (HNF1 β) jest czynnikiem transkrypcyjnym kodowany przez gen *HNF1B*, zlokalizowany na chromosomie 17. Z uwagi na jego wielonarządową ekspresję jest on związany z organogenezą m.in. układu moczowego, narządów płciowych, trzustki, żołądka, jelit, wątroby, dróg żółciowych, przytarczyc i płuc [1-3]. Mutacje w genie *HNF1B* dziedziczą się w sposób autosomalny dominujący, ale należy pamiętać, że w około 50% przypadków powstają one *de novo* [4, 5]. Defekty genu *HNF1B* stanowią najczęstszą genetyczną przyczynę wad nerek i układu moczowego (CAKUT). Mutacje *HNF1B* są odpowiedzialne za 10-30% przypadków w badanych grupach chorych [6-8].

Ferre i wsp. w szczegółowy sposób podsumowuje udział czynnika HNF1 β na każdym etapie nefrogenyzy [9]. Stąd pacjenci będący nosicielami mutacji w genie *HNF1B* prezentują szeroki wachlarz fenotypów nerkowych, wśród których wymienić należy stwierdzane już w okresie prenatalnym hiperechogenne nerki z zatarciem zróżnicowania korowo-rdzeniowego, torbiele nerek, dysplazje nerek, w tym dysplazję wielotorbielowatą nerki, hipoplazję nerek, agenezję nerki czy nerkę podkowiastą. Ponadto, z uwagi na wpływ czynnika HNF1 β na ekspresję genów kodujących cewkowe transportery jonowe w nefronie, chorzy pacjenci mogą prezentować takie zaburzenia biochemiczne, jak hipomagnezemia z hipermagnezurią, hipokalciuria czy hipokaliemia.

Oprócz CAKUT u chorych obserwuje się szerokie spektrum zaburzeń pozanerkowych, przedstawionych na **rycynie 1** [10-24].



Rycina 1. Fenotyp kliniczny pacjentów z mutacją genu *HNF1B*.

Mając na względzie zróżnicowany obraz kliniczny mutacji *HNF1B*, podejmowane są próby stworzenia narzędzia diagnostycznego mającego wspomóc klinicystów w selekcji pacjentów do badań molekularnych w kierunku mutacji *HNF1B*. Przykładem tego jest tzw. *HNF1B* score zaproponowany przez Faguera i wsp. [19] jak i kryteria sugerowane przez Raaijmakers i wsp. [20]. W obu przypadkach bazują one na ocenie fenotypu nerkowego, wywiadu rodzinnego w kierunku wad układu moczowego i/lub cukrzycy oraz obecności/braku zaburzeń pozanerkowych, w tym nieprawidłowości biochemicznych. Niestety, żaden z nich nie został powszechnie zaakceptowany i uznany za „złoty

standard” diagnostyczny, szczególnie u dzieci, głównie z uwagi na brak walidacji jego przydatności w tej grupie chorych. Lim i wsp. [24] udowadniają, że stosowanie u dzieci proponowanego w HNF1B score punktu odcięcia na poziomie ≥ 8 pkt. może błędnie wskazywać na nieobecność mutacji *HNF1B*. Może to wynikać z dynamicznego fenotypu choroby i późniejszego rozwoju niektórych cech fenotypowych (np. dny moczanowej czy zaburzeń elektrolitowych). W opinii autorów HNF1B score wymaga zrewidowania lub obniżenia punktu odcięcia w populacji pediatrycznej.

Związek pomiędzy mutacją w genie *HNF1B* i hipomagnezemią zyskał na uwadze od czasu opublikowania wyników badań przez Adalat i wsp. [16]. Autorzy stwierdzili, że niskie stężenie magnezu w surowicy (sMg) częściej obserwowane jest wśród pacjentów z CAKUT na podłożu mutacji *HNF1B* w przeciwieństwie do tych, u których tę mutację wykluczono. Odkryto, że gen *HNF1B* reguluje transkrypcję genu *FXYD2*, kodującego podjednostkę γ $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ -azy biorącej udział w cewkowym transporcie jonów Mg^{2+} i Ca^{2+} w cewce dystalnej nefronu. Mutacja w genie *HNF1B* wpływa na jej funkcję, skutkując zwiększoną nerkową utratą magnezu i zmniejszoną wapnia. W badaniach, w których analizowano stężenie sMg, częstość występowania hipomagnezemii znacząco się różniła (**tabela 1**). Wartym podkreślenia jest fakt, że dla definicji hipomagnezemii, autorzy tych prac stosowali różne wartości odcięcia stężenia sMg (tj. 0,6-0,75 mmol/l) [17].

Tabela 1. Częstość hipomagnezemii u chorych z nefropatią *HNF1B* – dane literaturowe.

	Hipomagnezemia				Wartości referencyjne dla hipomagnezemii
	HNF1B+ (%)		HNF1B- (%)		
	dorośli	dzieci	dorośli	dzieci	
<i>Adalat i wsp.</i> [16]	-	8/18 (44)	-	1/48 (2)	<0,65 mmol/l
<i>Faguer i wsp.</i> [18]	9/12 (74)	1/3 (33)	-		<0,75 mmol/l
<i>Faguer i wsp.</i> [19]	3/17 (17,6)	0/39 (0)	4/135 (3)	10/246 (4,1)	<0,7 mmol/l
<i>Raaijmakers i wsp.</i> [20]	4/7 (58)	1/13 (8)	10/185 (5.4)		<0,6 mmol/l
<i>Madariaga i wsp.</i> [21]	-	9/17 (53)	3/35 (8,6)		nieokreślone
<i>Nagano i wsp.</i> [22]	11/13 (85)	2/18 (11)	-		<0,7 mmol/l
<i>Okorn i wsp.</i> [23]	-	12/50 (24)	-		<0,65 mmol/l
<i>Lim i wsp.</i> [24]	0/3 (0)	3/8 (37,5)	-		<0,7 mmol/l
<i>Kołbuc i wsp.</i>	-	26/40 (65)	-	3/63 (4,8)	zależne od wieku [25]

Hiperurykemia jest charakterystycznym objawem nefropatii *HNF1B*. Bingham i wsp. w 2003 r. jako pierwsi stwierdzili zaburzenia kwasu moczowego wśród osób z rodzinną nefropatią hiperurykemiczną na podłożu mutacji *HNF1B* [15]. Od tego czasu podwyższone stężenie

kwasy moczowe w surowicy (sUA) było wielokrotnie opisywane u nosicieli tej mutacji – **tabela 2**. Jednakże porównanie częstości hiperurykემii u pacjentów z CAKUT, z i bez mutacji w genie *HNF1B*, wykazało brak różnic pomiędzy dwoma grupami, co może stanowić o braku związku hiperurykემii z defektem genu *HNF1B* [20, 21]. Istnieje wiele hipotez mogących tłumaczyć mechanizm, w przebiegu którego dochodzi do hiperurykემii u dotkniętych mutacją chorych. Ich wspólnym mianownikiem jest fakt potencjalnie obniżonej ekspresji uromoduliny i/lub transporterów kwasu moczowego (OAT 1 i 3) odpowiadających za jego sekrecję w nerkach [26]. Nie można zapomnieć, że wysokie stężenie sUA może być również spowodowane obniżoną filtracją nerkową w przewlekłej chorobie nerek (PChN). Heidet i wsp. sugerują, że stwierdzenie hiperurykემii i/lub obniżonego frakcyjnego wydalania kwasu moczowego (FEUA) u pacjenta z CAKUT, powinno być dodatkowym argumentem za przeprowadzeniem diagnostyki molekularnej [12].

Tabela 2. Hiperurykemia u pacjentów z nefropatią *HNF1B* – dane literaturowe.

	Hiperurikemia				Wartości referencyjne dla hiperurikemii
	HNF1B+ (%)		HNF1B- (%)		
	dzieci	dorośli	dzieci	dorośli	
<i>Ulinski i wsp.</i> [4]	7/23 (30)	-	-	-	nieokreślone
<i>Decramer i wsp.</i> [27]	11/18 (61)	-	-	-	nieokreślone
<i>Adalat i wsp.</i> [16]	10/14 (71)	-	7/15 (47)	-	zależne od wieku
<i>Heidet i wsp.</i> [12]	12/75 (16)		-		nieokreślone
<i>Raaijmakers i wsp.</i> [20]	4/20 (20)		41/185 (22,2)		>5,7 mg/dl u dziewcząt, >7 mg/dl u chłopców, bez względu na wiek
<i>Madariaga i wsp.</i> [21]	6/17 (27)	0/4 (0)	12/36 (33)	-	nieokreślone
<i>Okorn i wsp.</i> [23]	19/52 (37)	-	-	-	zależne od wieku
<i>Nagano i wsp.</i> [22]	2/18 (11)	4/13 (31)	-		sUA >7 mg/dl, bez względu na wiek i płeć
<i>Lim i wsp.</i> [24]	8/11 (73)	3/3 (100)	-		sUA >7 mg/dl, bez względu na wiek i płeć
<i>Kolbuc i wsp.</i>	17/40 (42,5)	-	10/65 (15,4)	-	zależne od wieku i płci [25]

Cukrzyca MODY typu 5 (MODY5) jest jedną z manifestacji defektu genu *HNF1B* (*HNF1B*-MODY). Mutacja tego genu została po raz pierwszy opisana w 1997 r. w japońskiej rodzinie z cukrzycą [28]. Kolejne opisy przypadków wykazywały współwystępowanie cukrzycy z torbielami nerek, stąd początkowo chorobę na podłożu mutacji tego genu określano jako (z ang.) *renal cysts and diabetes syndrome*.

Aktualnie *HNF1B*-MODY stanowi 5-10% wszystkich typów MODY [29]. MODY5 rozwija się w okresie młodzieńczym lub wczesnym wieku dorosłym. Poza niedoborem insuliny związanym z zaburzeniami trzustki, pacjenci prezentują pewien stopień wątrobowej insulinooporności [30].

Podsumowując, CAKUT jest najczęstszym fenotypem choroby związanej z mutacją genu *HNF1B*. Celem wczesnego postawienia rozpoznania klinicznego, dzieci z CAKUT wymagają holistycznego podejścia w procesie diagnostycznym. Stwierdzenie obecności zaburzeń pozanerkowych może być pomocne w selekcji chorych do badań molekularnych, które są niezbędne do ostatecznego rozpoznania nefropatii *HNF1B*. Odpowiednio wcześnie postawiona diagnoza pozwala na spersonalizowane postępowanie oraz możliwość poradnictwa genetycznego.

Rozdział 6.

Cel pracy

Głównym celem niniejszej pracy jest ocena częstości występowania zaburzeń homeostazy magnezu i kwasu moczowego u dzieci z mutacją genu *HNF1B* w oparciu o najnowsze pediatryczne wartości referencyjne dla sMg i sUA, uwzględniające wiek, jak i różnice wynikające z płci dziecka (w przypadku norm dla sUA) [25, 31].

Celami dodatkowymi były:

1. Ocena związku przyczynowego pomiędzy hiperurykemią i mutacją genu *HNF1B*.
2. Ocena przydatności klinicznej hipomagnezemii i hiperurykemii jako predyktorów nefropatii *HNF1B*.

Rozdział 7.

Praca 1: Hypomagnesemia is underestimated in children with *HNF1B* mutations.

Praca przedstawia retrospektywną, jednośrodkową analizę danych klinicznych 14 pacjentów z potwierdzoną mutacją w genie *HNF1B*. Główny nacisk położono na ocenę zaburzenia homeostazy magnezu. Na potrzebę wewnętrznej grupy kontrolnej, w celu zdefiniowania lokalnych, odpowiednich do wieku i płci wartości referencyjnych sMg, użyto dane 110 dzieci, u których nie stwierdzono żadnych patologii, ze szczególnym uwzględnieniem tych, które mogły mieć wpływ na sMg. Jako punkt odcięcia dla hipomagnezemii zastosowano wartość 2,5 centyla stężenia sMg w grupie kontrolnej. Przy użyciu wewnętrznych norm dla sMg, wykazano, że częstość występowania hipomagnezemii u dzieci z mutacją *HNF1B* wzrosła z 21,4% do 85,7% w momencie rozpoznania molekularnego oraz z 23% do 79,7% w chwili ostatniej obserwacji. Przedstawione wyniki jednoznacznie wskazują, że zastosowanie adekwatnych norm referencyjnych zamiast konserwatywnej wartości, obowiązującej w laboratorium szpitalnym (tj. sMg < 0,7 mmol/l), znacząco wpływa na częstość rozpoznania hipomagnezemii w grupie dzieci z mutacją *HNF1B*. Wysoka częstość występowania tego zaburzenia w naszej grupie, względem dotychczas publikowanych przez innych autorów, świadczy o niedoszacowaniu w populacji dziecięcej tego charakterystycznego dla nefropatii *HNF1B* parametru, co ostatecznie może wpłynąć na opóźnione jej rozpoznanie.

Należy podkreślić, że wartości referencyjne dla sMg prezentowane w naszej pracy nie powinny być traktowane jako ogólnie stosowane normy, gdyż służyły jedynie do wewnętrznej kontroli. Przykładem takich norm są natomiast wspomniane w artykule wartości referencyjne sugerowane przez Ridefelta i wsp. [31] czy Colantonio i wsp. [32], które są zbliżone do wartości uzyskanych w naszej grupie kontrolnej. W obu badaniach sugerowane wartości odcięcia dla hipomagnezemia są wyższe niż te będące dotychczas w użyciu przez większość autorów, jak i stosowane przez większość laboratoriów.

Istnieje jednakże obawa, że stosowanie wyższych wartości odcięcia dla hipomagnezemia może zredukować jej czułość i swoistość jako markera *HNF1B*. Faktycznie, w naszym badaniu w grupie < 10 r.ż., nie widać istotnych różnic stężenia sMg u pacjentów z mutacją *HNF1B* względem grupy kontrolnej, co może świadczyć o tym, że wartość predykcyjna sMg może być niższa we wczesnym dzieciństwie. W tej grupie pacjentów wydaje się więc być zasadna jednoczesna ocena sMg i frakcyjnego wydalania Mg (FEMg) w celu potwierdzenia nerkowej przyczyny utraty magnezu. W tym zakresie, podobnie jak inni autorzy [33], proponujemy stosowanie wartości 5% dla FEMg jako górnej granicy normy. Przyjmując takie założenie w naszym badaniu, częstość hipermagnezurii w grupie kontrolnej spadłaby z 14,5% (przy zastosowanym punkcie odcięcia FEMg > 4%) do 4,5%, podczas gdy w grupie z mutacją genu *HNF1B* nie zmieniłaby się istotnie.

Poczynione obserwacje mogą mieć zastosowanie również w diagnostyce innych schorzeń, takich jak rodzinna hipomagnezemia i hiperkalciuria z nefrokalcynozą czy zespół Gitelmana, w których nerkowa hipomagnezemia jest objawem wiodącym.

Paper no.1: Hypomagnesemia is underestimated in children with *HNF1B* mutations.

In this paper, retrospective, single-center clinical characteristics analysis of 14 patients positive for *HNF1B* mutations is presented. Assessment of sMg homeostasis was the main aim of this study. For the purpose of creating the control group, in order to define, local, age- and gender-appropriate reference values of sMg data of 110 children were used. All subjects were clear of any pathology with particular attention to those that could affect sMg. Calculated 2.5th percentiles of sMg in the control group served as hypomagnesemia cutoff. With the use of internal reference values, it was revealed that hypomagnesemia prevalence in children harbouring *HNF1B* mutations rose from 21.4% to 85.7% at the time of molecular diagnosis and from 23% to 79.7% at the time of last follow up. These results clearly indicate that the application of appropriate reference values instead of conservative values from local laboratories (i.e. sMg < 0.7 mmol/l) substantially changes the prevalence of hypomagnesemia in children with *HNF1B* mutations. Its high rate of occurrence in our group, when compared with results from studies published up to date by other authors, indicates an underestimation of this *HNF1B* nephropathy hallmark in children. In the end, it may cause a delay in making a diagnosis.

It should be kept in mind that sMg norms presented in this paper should not be considered as reference values and serve only as the internal control group. An example of such is mentioned in the paper, pediatric age-appropriate reference values proposed by Ridefelt et al. [31] as well as Colantonio [32]. In fact, suggested by these authors, hypomagnesemia

cut-offs were comparable to our values from the control group and higher than those used in most laboratories and by most authors.

One may raise the concern, increasing the higher cut-off value of sMg would not reduce hypomagnesemia sensitivity and specificity as a marker of *HNF1B* disease. Indeed, in our study, there is an overlap in sMg concentrations between patients and controls below the age of 10 years which indicates that a prediction value of hypomagnesemia may be lower in early childhood. In this group of patients, it can be assumed that a paired assessment of sMg and fractional excretion of magnesium (FEMg) is justified to confirm the renal leak of magnesium. In this respect, we propose using a threshold of 5% as the upper limit of normal FEMg, which in fact, it is favored by other authors [33]. Making this assumption in our study, the incidence of hypermagnesuria in the control group would decrease from 14.5% (with FEMg > 4% cut-off applied) to 4.5%, whereas in patients positive for *HNF1B* mutations (mut+) it would not change significantly.

Our findings and observations could be of use in diagnostics of other diseases such as familial hypomagnesemia and hypercalciuria with nephrocalcinosis or Gitelman syndrome, where renal hypomagnesemia is the key cardinal sign.

Rozdział 8.

Praca 2: Four Cases of Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY) Type 5 Associated with Mutations in the Hepatocyte Nuclear Factor 1 Beta (*HNF1B*) Gene Presenting in a 13-Year-Old Boy and in Adult Men Aged 33, 34, and 35 Years in Poland.

Prezentowana seria przypadków dotyczy 4 pacjentów pochodzących z jednego ośrodka z *HNF1B*-MODY w wieku 13, 33, 34 i 35 lat. U 3 pacjentów rozpoznanie zostało postawiono późno, w 4 dekadzie życia, a u najstarszego z nich dodatkowo stwierdzono obecność przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych, co jest niezmiernie rzadkie w tej grupie cukrzyc [34].

Celem tego artykułu było zwróceniem uwagi klinicystów na szereg objawów charakterystycznych dla pacjentów z MODY5, w tym podkreślenie przydatności klinicznej hipomagnezemii w procesie diagnostycznym. W przypadku dwóch pacjentów rozpoznanie molekularne zostało postawione z opóźnieniem, pomimo współwystępowania torbieli nerek i cukrzycy. Oboje pacjenci nie zostali ocenieni pod względem potencjalnych objawów nefropatii *HNF1B* (w tym zaburzeń magnezu). Ostatecznie rozpoznanie zostało postawione wstecznie, po potwierdzeniu nefropatii *HNF1B* u innego członka rodziny. Podczas ostatniej wizyty kontrolnej w obu przypadkach potwierdzono obecność hipomagnezemii i/lub hipermagnezurii. Pozostała dwójka pacjentów również prezentowała zaburzenia homeostazy magnezu.

Ta seria przypadków potwierdza, że ocena sMg jak i jego nerkowej utraty za pomocą FEMg może być bardzo pomocne w diagnostyce różnicowej w kierunku *HNF1B*-MODY wśród pacjentów

ze współistniejącą cukrzycą i CAKUT. Ponownie podkreślono potrzebę stosowania odpowiednich norm referencyjnych, zarówno dla sMg i dla FEMg.

Paper no. 2: Four Cases of Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY) Type 5 Associated with Mutations in the Hepatocyte Nuclear Factor-1Beta (*HNF1B*) Gene Presenting in a 13-Year-Old Boy and in Adult Men Aged 33, 34, and 35 Years in Poland.

The aim of this article was to attract clinicians' attention to the wide spectrum of characteristic symptoms of patients with MODY5 and to underline hypomagnesemia's clinical utility in the *HNF1B* diagnostic process.

In two patients, molecular diagnosis of *HNF1B* mutations was confirmed with a delay despite the coincidence of renal cysts and diabetes. Unfortunately, those subjects were not thoroughly screened for potential features of *HNF1B* nephropathy (including magnesium homeostasis). Finally, the diagnosis was made reversely, after confirmation of *HNF1B* mutations in other members of the patients' family. At the time of last follow up both subjects presented with hypomagnesemia and/or hypermagnesuria. Magnesium homeostasis disorders were also observed in the remaining two cases.

This case report series confirms that the assessment of sMg and renal Mg wasting (FEMg) could be very helpful in the differential diagnosis of *HNF1B*-MODY among patients with diabetes and CAKUT. Again, the need of applying appropriate reference values for sMg and FEMg was stressed.

Rozdział 9.

Praca 3: Hyperuricemia Is an Early and Relatively Common Feature in Children with *HNF1B* Nephropathy but Its Utility as a Predictor of the Disease Is Limited.

W tym wieloośrodkowym, retrospektywnym badaniu przeanalizowano dane kliniczne 108 dzieci obserwowanych w kierunku nefropatii *HNF1B*, których dane zgromadzono w Polskim Rejestrze Uwarunkowanych Genetycznie Tubulopatii (POLtube). Wśród nich rozpoznanie mutacji genu *HNF1B* postawiono u 43 pacjentów (mut+). U pozostałych chorych ($n = 65$) wykluczono zmiany w obrębie tego genu (mut-). Grupa ta posłużyła jako grupa kontrolna. Tak powstałe dwie grupy pacjentów porównano pod względem szeregu parametrów antropometrycznych i biochemicznych. Ponownie w analizie zastosowano najnowsze pediatryczne wartości referencyjne w odniesieniu do sMg i sUA [25]. Grupę badaną charakteryzowała nieznacznie/umiarkowanie upośledzona czynność nerek (stadium I-III PChN).

Zgodnie z naszą wiedzą jest to pierwsze badanie, w którym szczegółowej ocenie poddano częstość występowania zaburzenia kwasu moczowego, analizując w całej grupie, jak i w arbitralnie ustalonych dwóch przedziałach wiekowych. Wykazaliśmy, że podwyższony sUA 3-krotnie częściej występuje u pacjentów mut+ w porównaniu z grupą mut-. Ta różnica była bardziej widoczna w młodszej grupie wiekowej (< 10 r.ż.). W ten sposób po raz pierwszy potwierdziliśmy obecność związku przyczynowego pomiędzy wysokim stężeniem sUA a defektem genu *HNF1B* oraz wykazaliśmy wczesne występowanie tego zaburzenia.

Ponadto, porównując obie grupy (mut+ vs mut-), nie stwierdzono również różnic w zakresie FEUA, co praktycznie eliminuje ten wskaźnik jako parametr dyskryminujący pacjentów z mutacją *HNF1B*. Obserwacja ta jest sprzeczna z wcześniejszymi doniesieniami na temat przydatności FEUA w diagnostyce chorych z defektem tego genu.

W drugim etapie oceniono przydatność kliniczną hiperurykემii w przewidywaniu obecności mutacji *HNF1B* u dzieci z CAKUT. Niestety, analiza przy użyciu metody regresji logistycznej wykazała niską wartość IG (ang. *information gain*, zysk informacyjny) dla hiperurykემii (0,34) jako predyktora choroby, w przeciwieństwie do hipomagnezemii i nadczynności przytarczyc [zdefiniowanej jako podwyższone stężenie parathormonu (PTH)]. Dokładność modelu składającego się z tych dwóch zmiennych wyniosła 84,6%. Dodanie hiperurykémii do tego modelu nie poprawiło jego wartości predykcyjnej. Może to wynikać z silnego związku sUA z funkcją nerek, surowiczym stężeniem PTH i FEUA. Analiza regresji wielozmiennej wykazała, że te parametry są silnymi determinantami sUA ($R^2 = 0,85$). Wysoka wartość IG dla nadczynności przytarczyc (0,99) w kontekście przewidywania obecności mutacji w genie *HNF1B* jest bardzo interesująca i wskazuje kolejny aspekt, który wymaga dalszych obserwacji i badań.

Mimo że praca dotyczyła zaburzeń kwasu moczowego, wykorzystano fakt zebrania dużej grupy chorych i obie grupy pacjentów porównano również pod względem zaburzeń gospodarki magnezu. Zgodnie z oczekiwaniami, średnie sMg było wyższe (sMg 0,72 vs 0,86 mmol/l, $p < 0,001$), a hipomagnezemia częstsza (65% vs 4,8%, $p < 0,001$) u pacjentów z mutacją *HNF1B*. Potwierdzeniem nerkowej przyczyny utraty magnezu jako przyczyny hipomagnezemii u pacjentów

z nefropatią *HNF1B* jest znamienna różnica w zakresie FEMg, którego średnia wartość była wyższa u nosicieli mutacji *HNF1B* (6,89% vs 3,97%, $p < 0,001$). Wysoka wartość IG dla hipomagnezмии w modelu regresji logistycznej (0,63) potwierdza jej przydatność kliniczną w przewidywaniu mutacji *HNF1B*.

Podsumowując, w pracy wykazano, że mimo relatywnie częstego występowania hiperurykemii, zaburzenie to jest słabym predyktorem nefropatii *HNF1B* i w przeciwieństwie do hipomagnezмии i nadczynności przytarczyc, nie powinno stanowić istotnego kryterium podczas selekcji pacjentów do badań molekularnych w kierunku mutacji *HNF1B*.

Paper no. 3: Hyperuricemia is an Early and Relatively Common Feature in Children with *HNF1B* Nephropathy but its Utility as a Predictor of the Disease is Limited.

In this multi-center, retrospective study clinical characteristics of 108 children suspected of *HNF1B* nephropathy, whose data were collected in the Polish Registry of Inherited Tubulopathies (POLtube) were analyzed. Among them, 43 patients were mut+. The remaining patients ($n = 65$) were negative for *HNF1B* mutations (mut-) and served as controls. Both groups were compared with respect to a number of anthropometrical and biochemical parameters. Again, the most recent pediatric reference values for sMg and serum uric acid (sUA) were applied [25].

To the best of our knowledge, this is the first study where the frequency of uric acid disorders was a subject of a detailed evaluation,

both in the entire cohort and in arbitrary two age subpartitions. We demonstrated that high serum urate is three times more frequent in mut+ children than in mut-. This difference was more explicit in the group of children < 10 years of age. Thus, for the first time, we confirmed the causal link between high sUA and *HNF1B* defect truly exists and we provided evidence of an early occurrence of this entity.

Furthermore, no differences were found when both groups (mut+ vs mut-) were compared with respect to fractional excretion of urate (FEUA), which basically eliminates it as a discriminatory marker of patients with *HNF1B* defect. It stays in contrast with earlier reports on FEUA utility in *HNF1B* disease diagnostics.

In the second phase of the study, the clinical utility of hyperuricemia in predicting *HNF1B* mutations in children with CAKUT was assessed. Unfortunately, logistic regression analysis showed a low information gain (IG) value for hyperuricemia (0.34) as a predictor of the disease contrary to IG of hypomagnesemia and hyperparathyroidism [defined as high serum PTH]. The accuracy of the model consisting of those two variables was 84.6%. Adding hyperuricemia to this model did not improve its predictive value. It could be due to the strong relation between sUA and renal function, serum PTH concentration, and FEUA. Multivariate regression analysis showed that those parameters are strong determinants of sUA ($R^2 = 0.85$). The high IG value of hyperparathyroidism (0.99) is very interesting in terms of *HNF1B* mutation prediction and shows another aspect that requires further observation and studies.

Despite the fact that this paper was focused on sUA disorders, the advantage of large cohort availability was taken and both groups of

patients were compared with respect to magnesium homeostasis disorders. As expected, mean sMg was higher (sMg 0.72 vs 0.86 mmol/l, $p < 0,001$) and hypomagnesemia more frequent (65% vs 4.8%, $p < 0.001$) in patients with *HNF1B* mutations. A substantial difference in FEMg and its higher mean values in *HNF1B* mutation carriers (6.89% vs 3.97%, $p < 0.001$) confirms the underlying renal leak of magnesium as a cause of hypomagnesemia in patients with *HNF1B* nephropathy. The high IG value of hypomagnesemia in logistic regression models (0.63) confirms its clinical utility in day-to-day practice.

In conclusion, in this paper, we showed that hyperuricemia, despite relatively high occurrence, is not a strong predictor of *HNF1B* nephropathy. In contrast to hypomagnesemia and hyperparathyroidism, it should not be a highly valued criterium in selecting patients for *HNF1B* molecular testing.

Rozdział 10.

Wnioski

Prace stanowiące cykl publikacji dostarczają odpowiedzi na wiele pytań klinicznych dotyczących zaburzeń homeostazy magnezu i kwasu moczowego u dzieci z CAKUT na podłożu mutacji genu *HNF1B*. Poniżej przedstawiono główne wnioski wynikające z cyklu prezentowanych prac:

1/ Hipomagnezemia i hiperurykemia u dzieci z nefropatią *HNF1B* są niedoszacowane, co wydaje się mieć częściowo związek ze stosowanymi przez autorów większością prac niewłaściwych wartości referencyjnych dla sMg i sUA.

2/ Hipomagnezemia jest najczęstszym zaburzeniem biochemicznym u dzieci z CAKUT na podłożu mutacją *HNF1B* i jest jej silnym predyktorem.

3/ Hiperurykemia jest wcześniej występującym oraz relatywnie częstym zaburzeniem występującym u dzieci z nefropatią *HNF1B* i przyczynowo związanym z mutacją tego genu. Jednakże jej przydatność kliniczna w przewidywaniu mutacji genu *HNF1B* jest ograniczona.

4/ Czynność nerek, FEUA oraz stężenie PTH mają największy wpływ na sUA u dzieci z CAKUT.

5/ Ocena FEUA nie ma żadnej wartości w selekcji dzieci z CAKUT do diagnostyki molekularnej w kierunku mutacji *HNF1B*. Dalszych badań wymaga określenie przydatności oceny PTH w prognozowaniu nefropatii na podłożu mutacji tego genu.

Conclusions

These papers forming a series of publications deliver answers to many clinical questions regarding magnesium and uric acid homeostasis disorders in children with CAKUT and underlying *HNF1B* mutations. The main conclusions drawn are listed below:

- 1.) Hypomagnesemia and hyperuricemia in children with *HNF1B* nephropathy are underestimated which partially could be due to inappropriate reference values applied for sMg and sUA.
- 2.) Hypomagnesemia is the most frequent biochemical disorder in children with *HNF1B*-related CAKUT and it is the strongest predictor.
- 3.) Hyperuricemia is an early occurring and relatively frequent disorder in children with *HNF1B* nephropathy, causally linked with *HNF1B* mutations. However, its clinical utility in terms of *HNF1B* mutations prediction is limited.
- 4.) Renal function, FEUA, and PTH are the strongest determinants of sUA in children with CAKUT.
- 5.) FEUA assessment has no value in selecting children with CAKUT that should be offered *HNF1B* molecular testing. The utility of PTH in predicting *HNF1B* mutations requires further investigation.

Rozdział 11.

Piśmiennictwo

1. Lindner T. A novel syndrome of diabetes mellitus, renal dysfunction and genital malformation associated with a partial deletion of the pseudo-POU domain of hepatocyte nuclear factor-1beta. *Hum Mol Genet* 1999;8(11):2001-2008.
2. Bingham C, Ellard S, Allen L et al. Abnormal nephron development associated with a frameshift mutation in the transcription factor hepatocyte nuclear factor-1 β . *Kidney Int* 2000;57(3):898-907.
3. Reber M, Cereghini S. Variant Hepatocyte Nuclear Factor 1 expression in the mouse genital tract. *Mech Dev* 2001;100(1):75-78.
4. Ulinski T, Lescure S, Beaufils S et al. Renal Phenotypes Related to Hepatocyte Nuclear Factor-1 β (TCF2) Mutations in a Pediatric Cohort. *J Am Soc Nephrol* 2006;17(2):497-503.
5. Edghill E. Mutations in hepatocyte nuclear factor-1 and their related phenotypes. *J Med Genet* 2005;43(1):84-90.
6. Thomas R, Sanna-Cherchi S, Warady B, Furth S, Kaskel F, Gharavi A. *HNF1B* and *PAX2* mutations are a common cause of renal hypodysplasia in the CKiD cohort. *Pediatr Nephrol* 2011;26(6):897-903.
7. Weber S, Moriniere V, Knüppel T et al. Prevalence of Mutations in Renal Developmental Genes in Children with Renal Hypodysplasia: Results of the ESCAPE Study. *J Am Soc Nephrol* 2006;17(10):2864-2870.
8. Vivante A, Kohl S, Hwang D, Dworschak G, Hildebrandt F. Single-gene causes of congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT) in humans. *Pediatr Nephrol* 2014;29(4):695-704.

9. Ferrè S, Igarashi P. New insights into the role of HNF-1 β in kidney (patho)physiology. *Pediatr Nephrol* 2018;34(8):1325-1335.
10. Clissold R, Hamilton A, Hattersley A, Ellard S, Bingham C. *HNF1B*-associated renal and extra-renal disease—an expanding clinical spectrum. *Nat Rev Nephrol* 2014;11(2):102-112.
11. Adalat S, Bockenhauer D, Ledermann S, Hennekam R, Woolf A. Renal malformations associated with mutations of developmental genes: messages from the clinic. *Pediatr Nephrol* 2010;25(11):2247-2255.
12. Heidet L, Decramer S, Pawtowski A et al. Spectrum of HNF1B Mutations in a Large Cohort of Patients Who Harbor Renal Diseases. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5(6):1079-1090.
13. Duval H, Michel-Calemard L, Gonzales M et al. Fetal anomalies associated with *HNF1B* mutations: report of 20 autopsy cases. *Prenat Diagn* 2016;36(8):744-751.
14. Verhave J, Bech A, Wetzels J, Nijenhuis T. Hepatocyte Nuclear Factor 1 β -Associated Kidney Disease: More than Renal Cysts and Diabetes. *J Am Soc Nephrol* 2015;27(2):345-353.
15. Bingham C, Ellard S, van't Hoff W et al. Atypical familial juvenile hyperuricemic nephropathy associated with a hepatocyte nuclear factor-1 β gene mutation. *Kidney Int* 2003;63(5):1645-1651.
16. Adalat S, Woolf A, Johnstone K et al. *HNF1B* Mutations Associate with Hypomagnesemia and Renal Magnesium Wasting. *J Am Soc Nephrol* 2009;20(5):1123-1131.
17. van der Made C, Hoorn E, de la Faille R et al. Hypomagnesemia as First Clinical Manifestation of ADTKD-*HNF1B*: A Case Series and Literature Review. *Am J Nephrol* 2015;42(1):85-90.

18. Faguer S, Decramer S, Chassaing N et al. Diagnosis, management, and prognosis of *HNF1B* nephropathy in adulthood. *Kidney Int* 2011;80(7):768-776.
19. Faguer S, Chassaing N, Bandin F et al. The HNF1B score is a simple tool to select patients for *HNF1B* gene analysis. *Kidney Int* 2014;86(5):1007-1015.
20. Raaijmakers A, Corveleyn A, Devriendt K et al. Criteria for HNF1B analysis in patients with congenital abnormalities of kidney and urinary tract. *Nephrol Dial Transplant* 2014;30(5):835-842.
21. Madariaga L, García-Castaño A, Ariceta G et al. Variable phenotype in *HNF1B* mutations: extrarenal manifestations distinguish affected individuals from the population with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Clin Kidney J* 2018;12(3):373-379.
22. Nagano C, Morisada N, Nozu K et al. Clinical characteristics of *HNF1B*-related disorders in a Japanese population. *Clin Exp Nephrol* 2019;23(9):1119-1129.
23. Okorn C, Goertz A, Vester U et al. *HNF1B* nephropathy has a slow-progressive phenotype in childhood—with the exception of very early onset cases: results of the German Multicenter HNF1B Childhood Registry. *Pediatr Nephrol* 2019;34(6):1065-1075.
24. Lim S, Kim J, Han K et al. Genotype and Phenotype Analyses in Pediatric Patients with *HNF1B* Mutations. *J Clin Med* 2020;9(7):2320.
25. Ridefelt P, Hilsted L, Juul A, Hellberg D, Rustad P. Pediatric reference intervals for general clinical chemistry components – merging of studies from Denmark and Sweden. *Scand J Clin Lab Invest* 2018;78(5):365-372.

26. Gresh L, Fischer E, Reimann A et al. A transcriptional network in polycystic kidney disease. *EMBO J* 2004;23(7):1657-1668.
27. Decramer S, Parant O, Beaufils S et al. Anomalies of the TCF2 Gene Are the Main Cause of Fetal Bilateral Hyperechogenic Kidneys. *J Am Soc Nephrol* 2007;18(3):923-933.
28. Horikawa Y, Iwasaki N, Hara M et al. Mutation in hepatocyte nuclear factor-1 β gene (TCF2) associated with MODY. *Nat Genet* 1997;17(4):384-385.
29. Peixoto-Barbosa R, Reis A, Giuffrida F. Update on clinical screening of maturity-onset diabetes of the young (MODY). *Diabetol Metab Syndr* 2020;12(1):50.
30. Hattersley A, Greeley S, Polak M et al. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* 2018;19:47-63.
31. Ridefelt P, Aldrimer M, Rödö P et al. Population-based pediatric reference intervals for general clinical chemistry analytes on the Abbott Architect ci8200 instrument. *Clin Chem Lab Med* 2012;50(5):845-851.
32. Colantonio D, Kyriakopoulou L, Chan M et al. Closing the Gaps in Pediatric Laboratory Reference Intervals: A CALIPER Database of 40 Biochemical Markers in a Healthy and Multiethnic Population of Children. *Clin Chem* 2012;58(5):854-868.
33. Seeman T, Fořtová M, Sopko B, Průša R, Pohl M, John U. Hypomagnesaemia is absent in children with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Ann Clin Biochem* 2018;56(1):90-94.

34. McDonald T, Colclough K, Brown R et al. Islet autoantibodies can discriminate maturity-onset diabetes of the young (MODY) from Type 1 diabetes. *Diabet Med* 2011;28(9):1028-1033.