

1

**ENFERMEDAD DE ANDERSON-FABRY: RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS ENZIMÁTICOS Y DE GENÉTICA MOLECULAR, EN UNA FAMILIA.**

A PEREZ, S.FABADO, I FEBRER\*, F.J. VERA\*\*, A CHABAS\*\*\*, J.M. GRANA, C MARTINEZ, M.A. FENELLOSA.

Serv. Nefrología y Dermatología\*, Hospital General y Universitario de Valencia. Serv. Anatomía Patológica\*\*, Hospital La Fe de Valencia. Instituto Bioquímica Clínica\*\*\*, Barcelona

La Enfermedad de Anderson-Fabry (EAF), es una tesaurismosis por déficit de algalactosidasa A, que produce un almacenamiento de Galactosil-Ceramida en órganos y tejidos. Es una afección poco frecuente, un caso/117000 nacidos vivos; con diagnóstico no bien establecido en mujeres heterocigóticas portadoras o en varones hemizigóticos con formas clínicas atípicas.

La EAF presenta una transmisión recesiva ligada al sexo, estando secuenciado su gen en la banda Xq22.1 del brazo largo del cromosoma X. La alteración genética es variable, prácticamente cada familia tiene su propia anomalía. En varones se suele manifestar como un defecto enzimático completo. Las portadoras suelen ser asintomáticas, si bien un 15% pueden presentar afectación de uno o más órganos, con distinta expresión fenotípica.

Se ha realizado el estudio de una familia, con tres miembros de la misma afección, madre, hija e hijo.

La madre, tiene déficit enzimático y proteinuria importante; se le realizó biopsia renal, mostrando las lesiones típicas de la EAF, incluso en un examen retrospectivo de una histerectomía de hacía dos años. La madre estaría incluida dentro del 15% de las portadoras con manifestaciones clínicas.

La hija muestra un déficit enzimático, sin manifestaciones clínicas de EAF hasta la actualidad. El hijo manifiesta un déficit enzimático, sin manifestación clínica de afectación renal, si de otras manifestaciones, por lo que se ha iniciado tratamiento con REPLAGAL (alfa galactidasa) como terapéutica reemplazante enzimática, habiendo mejorado de sus manifestaciones clínicas.

El estudio de Genética Molecular evidencia una delección en los exones 5-7 en uno de sus alelos, en los tres afectados. Así mismo, al realizar el estudio del pedigree familiar, la afectación en esta familia mostró tratarse de una mutación de "novo".

2

**CORRELACIÓN ENTRE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS Y ABERRACIONES CROMOSÓMICAS EN HIPERPARATIROIDISMO SECUNDARIO SEVERO**

Santamaría I<sup>1</sup>, Afonso S<sup>2</sup>, Cigudosa J<sup>3</sup>, Gainsburg ME<sup>4</sup>, Jofré R<sup>5</sup>, Fernández-Martín JL<sup>1</sup>, Rodríguez M<sup>1</sup> y Cannata JB<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Servicio de Metabolismo Óseo y Mineral, Instituto Reina Sofía de Investigación, Oviedo <sup>2</sup>Universidad de La Laguna, Tenerife <sup>3</sup>C.N.I.O. Madrid <sup>4</sup>Hospital Carlos Durand, Buenos Aires, Argentina <sup>5</sup>H.G.U. Gregorio Marañón, Madrid.

Un elevado porcentaje de pacientes con insuficiencia renal crónica desarrolla hiperparatiroidismo secundario (HPT-2). Niveles elevados de fósforo (P), bajos de calcio (Ca) y déficit de calcitriol son tres de los factores implicados en la génesis y progresión del HPT2, siendo el P elevado el que parece más relacionado con el crecimiento y el desarrollo de autonomía glandular por posibles cambios irreversibles genéticos y estructurales. Así, las aberraciones cromosómicas recientemente descritas en paratiroides de enfermos renales con HPT-2 (Afonso y col.) podrían guardar relación con los parámetros bioquímicos descritos. Por tanto, el objetivo de este estudio fue investigar la asociación entre los parámetros bioquímicos (P, Ca y PTH) y la presencia de aberraciones cromosómicas en glándulas paratiroides de pacientes en hemodiálisis.

Se estudiaron 69 glándulas de 29 pacientes sometidos a paratiroidectomía, que fueron analizadas por hibridación genómica comparada (CGH) para determinar la presencia de aberraciones cromosómicas (ganancias y pérdidas de ADN, tanto numéricas como parciales). Los datos bioquímicos previos a la paratiroidectomía se agruparon en función de valores por encima del rango de normalidad para P (>5.5) y Ca (>10.5), así como los valores máximos de P, Ca y PTH. El análisis estadístico por el test no-paramétrico de Mann-Whitney se realizó tanto considerando las glándulas de forma independiente (tabla 1), como agrupándolas por pacientes; también se analizaron en función de si habían recibido o no un trasplante renal previo a la extracción de paratiroides.

El 80% de los pacientes presentó aberraciones en al menos 1 de las glándulas extirpadas. Pudo encontrarse una relación estadísticamente significativa entre los niveles máximos de P y sus elevaciones mantenidas con la presencia de aberraciones cromosómicas (tabla 1). Los resultados muestran una relación inversa a la esperada para un activador de la proliferación como el P, ya que sus valores máximos se asociaron a la ausencia de aberraciones. Por el contrario, el incremento de Ca se asoció con la presencia de aberraciones. No se encontraron diferencias significativas entre los niveles de PTH o el tiempo de diálisis, posiblemente debido a la variabilidad en el control y tratamiento médico de estos pacientes.

	Ca max	Ca exc.	P max	P exc.	PTH max
Sin aberraciones	11.3±0.9	0.5±0.3	9.0±1.6	2.0±1.0	1607±603
Con aberraciones	11.7±0.6	0.6±0.3	8.1±1.9	1.3±0.8	1356±670
p	0.02*	0.06	0.05*	0.01*	0.14

Estos resultados preliminares sugieren que el exceso de Ca podría estar implicado en la aparición de aberraciones cromosómicas, si bien se desconoce si es meramente un reflejo de la severidad del HPT-2 o si el Ca es realmente un factor implicado en las alteraciones genéticas observadas en HPT-2 severos. Será necesario continuar estos estudios con un mayor número de glándulas con objeto de dar mayor validez a estos hallazgos.

3

**EXPRESIÓN DE ICAM-1, VCAM-1 Y RANTES EN DONANTES EN PARADA CARDIACA**

B Aviles\*, M Gomez del Moral\*\*, I Colbeger\*\*, D Prats\*, F Coronel\*, E Martinez-Naves\*\*, A Barrientos\*

\*Servicio de Nefrología del Hospital Clínico San Carlos de Madrid, España.

\*\*Dpto. de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.

Introducción: la expresión de moléculas de adhesión en el tejido renal varía en intensidad según el tipo de isquemia a la que es sometida. La donación en parada cardiaca (PC) somete al tejido a una isquemia caliente sobrañadida a la isquemia fría de los donantes en muerte cerebral (MC).

Objetivos: queremos comparar la expresión en el injerto renal de ICAM-1, VCAM-1 y RANTES entre los donantes en MC, los procedentes de PC y un grupo control sin isquemia. Y correlacionarla con la evolución a corto plazo del trasplante: necrosis tubular aguda prolongada (NTA) y/o rechazo agudo (RA).

Material y métodos: realizamos 28 biopsias de tejido renal, 5 muestras control de tejido sano procedente de nefrectomías por tumores renales (sin isquemia), 7 de donantes en MC (isquemia fría) y 16 de donantes en PC (isquemia caliente + fría). La toma de muestra del injerto se hizo justo antes de su implante en los receptores. La edad de los donantes en MC y en PC fue de 49,7 años (SD10) y de 29,8 años (SD2,8) respectivamente. El tiempo de isquemia fría fue de 17,8 horas (SD 2,8) y de 19,8 (SD2,1) en los donantes en MC y PC respectivamente. El tiempo de isquemia caliente fue de 111,6 minutos (SD19,2) y en bypass de 196,2 minutos (SD78,6). Todos los receptores recibieron tratamiento con Prednisona, micofenolato y Ciclosporina/Tacrolimus, ninguno era hiperinmunizado previo. Se biopsiaron todos los enfermos con retraso en el inicio de la función del injerto de más de 5-7 días y los que presentaron deterioro brusco de su función renal. Se cuantificaron las moléculas a estudio mediante RT-PCR del tejido renal.

Resultados: en los receptores en PC se observó NTA prolongada en 11 casos (68,75%), RA en 5 pacientes (31,2%, dos de ellos tras la NTA), una trombosis del injerto sin RA y función renal posttrasplante sin complicaciones en uno. Tras la cuantificación de las moléculas estudiadas se obtuvieron los siguientes resultados:

	ICAM-1	VCAM-1	RANTES
Controles	0,78 (SD0,005)	0,36 (SD0,01)	0,35 (SD0,02)
MC	0,93 (SD0,28)	0,48 (SD0,06)*	0,33 (SD0,04)
PC	1,2 (SD0,24)*	0,42 (SD0,01)*	0,4 (SD0,05)*
NTA	1,15 (SD0,007)	0,42 (SD0,009)*	0,39 (SD0,05)
RA	1,26 (SD0,17)*	0,42 (SD0,007)*	0,41 (SD 0.02)*

\*p<0.05

Conclusiones: los riñones procedentes de la parada cardiaca presentan, de forma significativa, mayor expresión de ICAM-1, y de RANTES respecto al grupo control, y esto ocurre a expensas fundamentalmente de los que desarrollarán posteriormente rechazo agudo. Todos los riñones sometidos a isquemia presentan mayor expresión de VCAM-1 respecto al grupo control sin que encontremos diferencias según el tipo de donante.

4

**ESTUDIO GENÉTICO DE LA CISTINOSIS Y SU APLICACIÓN DIAGNÓSTICA**

Palenzuela, LI. (1) (2); Vilalta, R. (1); Vila, A. (1); Nieto, J.L. (1); Meseguer, A. (2); Callis, L.M. (1)

(1) Servei de Nefrologia, Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron, Barcelona

(2) Centre d'Investigacions en Bioquímica i Biologia Molecular (CIBBIM), Hospitals Vall d'Hebron, Barcelona (España)

La cistinosis, proteína que transporta la cistina fuera del lisosoma, está codificada por el gen CTNS. Dicho gen se encuentra mutado en la cistinosis, enfermedad autosómica recesiva con una incidencia de 1 de cada 100.000 nacimientos, caracterizada por la acumulación intracelular de cistina, desarrollo del Síndrome de Fanconi tubular renal, retraso del crecimiento, poliuria, polidipsia, deshidratación, acidosis y raquitismo hipofosfatémico, pudiendo evolucionar, si no se trata adecuadamente, a insuficiencia renal terminal.

Entre un 33 y un 44 % de los pacientes presentan un defecto genético que consiste en una gran delección en homocigosis que implica la ausencia de más de un 80 % del gen. En el resto de pacientes la delección en un solo alelo va acompañada de una mutación puntual en el otro. En el caso de que no exista la delección en ningún alelo, ha de producirse, al menos una mutación puntual deletérea en cada alelo. Considerando la delección tanto en homocigosis como en heterocigosis, ésta se encuentra en un 76 % de los pacientes.

Se ha realizado el estudio genético en 5 pacientes pertenecientes a 3 familias y los métodos utilizados para detectar las mutaciones son la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), el Single Strand Conformational Polymorphism (SSCP) y la secuenciación directa.

Tras el estudio de los 5 pacientes hemos detectado la gran delección en homocigosis en un individuo, una microdelección de 2 nucleótidos no descrita en el exón 8 y una mutación puntual (ATG a ACG, cambiando una Metionina por una Treonina) no descrita en el codón de iniciación del exón 3 en 2 hermanos y en los otros 2 hermanos hasta el momento hemos detectado una mutación puntual también nueva en el exón 10 (ATC a ACC, cambiando una Isoleucina por una Treonina), estando pendiente la determinación de la segunda mutación en estos últimos pacientes.

Dado el tamaño reducido del gen (12 exones) y la elevada frecuencia de delecciones, el análisis genético puede resultar práctico como diagnóstico y de cara al consejo genético a las familias.

- Aceptado Póster
- Aceptado Presentación Oral

5

**SOBREEXPRESIÓN DE PROTEÍNA EDIP EN UN SISTEMA DE CÉLULAS ENDOTELIALES EN CULTIVO: NUEVO MODELO DE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL**

Lourdes Sánchez de Miguel, Carolina Carrasco, Petra J. Mateos-Cáceres, Antonio García-Méndez, Jesús de la Osada, Antonio López-Farré. Laboratorio de Investigación Cardiovascular e Hipertensión. Fundación Jiménez Díaz. Madrid

La deficiencia en la síntesis de NO liberado por el endotelio a través de la óxido nítrico sintasa endotelial (NOSe) conduce a una disminución en la respuesta vasorelajadora en los vasos conocida como disfunción endotelial. En nuestro laboratorio se ha demostrado la existencia de una proteína implicada en la disminución de la vida media del ARN mensajero de NOSe que hemos denominado "endothelial dysfunction inducing protein" (EDIP). Nuestro objetivo fue la obtención y clonación de EDIP y su posterior sobreexpresión en un sistema de células endoteliales bovinas en cultivo (BAEC). Utilizando pBluescript II SK, clonamos el cDNA que codifica la expresión de la proteína EDIP y lo expresamos utilizando reticulocitos de conejo. El clon de EDIP seleccionado y denominado pNOS-BP se secuenció y su expresión correspondía a una proteína de 60 Kda. Posteriormente se subclonó en pIRES-hrGFP y se sobreexpresó en BAEC mediante transfección utilizando liposomas. Se observó que las BAEC que sobreexpresaban EDIP mostraban una disminución muy acusada en la expresión proteica de NOSe paralelo a una disminución brusca de sus niveles de ARNm. Esta sobreexpresión produjo además un incremento en la actividad de unión de los extractos citosólicos al extremo 3'-UTR del ARN mensajero de NOSe.

En conclusión, la sobreexpresión en un sistema de células BAEC de la proteína EDIP conduce a una situación de disfunción endotelial al disminuir la expresión de NOSe lo cual podría constituir un nuevo modelo que permita el estudio de la disfunción endotelial así como el desarrollo de nuevos fármacos que puedan bloquear esta vía.

6

**POLIMORFISMOS EN GENES CODIFICADORES DE COMPONENTES DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA Y DE LA OXIDO NITRICO SINTASA ENDOTELIAL Y DISFUNCIÓN ERÉCTIL EN PACIENTES TRASPLANTADOS RENALES.**

P.Rebollo, F. Ortega, E.Coto, R. Alvarez, C.Valdés, T.Ortega, F.Fernandez-Vega, J.Baltar, A. Laurés, J.Alvarez-Grande. Servicio de Nefrología-1. Hospital Central de Asturias. Instituto "Reina Sofía" de Investigación Nefrológica. Oviedo. España.

**INTRODUCCIÓN:** Anteriormente hemos presentado los resultados de la prevalencia de Disfunción Eréctil (DE) en pacientes trasplantados renales de nuestra región. La prevalencia de DE (determinada por puntuación en el cuestionario IIEF-5=<21 puntos) en los pacientes estudiados fue de 55.3%. Ahora estudiamos la influencia sobre la DE de algunos polimorfismos relacionados con el daño vascular en nuestros pacientes.

**SUJETOS Y MÉTODOS:** De los 200 pacientes trasplantados renales anteriormente reclutados, 139 (69.5%) participaron en esta parte del estudio, 78 con DE y 61 sin DE. Estos pacientes fueron genotipados, usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para algunos polimorfismos de genes que codifican componentes del sistema renina angiotensina y de la óxido nítrico sintasa endotelial. Se compararon las frecuencias de genotipos y alelos utilizando tablas de contingencia y la prueba de Chi cuadrado. Los polimorfismos estudiados fueron: ACE (I/D), AT1 (A1166C), AT2 (A3123C), AGT (MT235T), APOE (ε2, ε3, ε4), eNOS (vnt, intron 4) y MTHFR (C677T).

**RESULTADOS:** No se encontró ninguna asociación estadísticamente significativa entre los polimorfismos ACE, AT1, AT2, AGT, APOE, eNOS y MTHFR y la presencia de DE. La distribución de AGT M/M, AGT M/T, AGT T/T es 44.1% (26/59), 32.2% (19/59) y 23.7% (14/59) en el grupo con DE, y 38.5% (20/52), 50% (26/52) y 11.5% (6/52) en el grupo sin DE. La frecuencia del alelo AGT T/T es superior en el grupo con DE que en el grupo sin DE, aunque esta diferencia no es estadísticamente significativa (p=0.077). La distribución de MTHFR C/C, MTHFR C/T, MTHFR T/T es 39.5% (30/76), 51.3% (39/76) y 9.2% (7/76) en el grupo con DE, y 45% (27/60), 35% (21/60) y 20% (12/60) en el grupo sin DE. La frecuencia del alelo MTHFR T/T es inferior en el grupo con DE que en el grupo sin DE, aunque la diferencia tampoco es estadísticamente significativa (p=0.061).

**CONCLUSIONES:** No encontramos ninguna asociación estadísticamente significativa entre los polimorfismos estudiados y la presencia de DE en los pacientes trasplantados renales estudiados. Esperamos aumentar el tamaño muestral para confirmar este hallazgo.

7

**REFINAMIENTO DEL LÓCUS ADMCKD-2 Y GENES CANDIDATOS PARA LA ENFERMEDAD RENAL QUÍSTICA MEDULAR AUTOSÓMICA DOMINANTE.**

W. Rezende, P. Calo-Mata, M. A. García-González, E. Riveira, X. M. Lens.

Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, Molecular Medicine Unit-FINGO, Santiago de Compostela, Spain

La Enfermedad Quística Medular Autosómica Dominante (ADMCKD) se caracteriza clínicamente por el desarrollo de Insuficiencia Renal Crónica entre la 3ª y la 6ª década de la vida. Puede acompañarse de aparición precoz de Gota (también es conocida como Nefropatía Hiperuricémica Familiar) y de quistes en la región medular.

Se ha descrito heterogeneidad genética con al menos 2 loci responsables localizados en los cromosomas 1 (ADMCKD-1) y 16 (ADMCKD-2). El presente trabajo desarrolla el refinamiento del locus ADMCKD-2 en el brazo corto del cromosoma 16, en una región comprendida en 10 cM y el análisis de genes candidatos.

Se estudiaron 17 familias con ADMCKD, 4 de ellas positivamente ligadas a esta región, utilizando un total de 15 marcadores microsatélites (D16S500, D16S680, D16S3079, D16S3060, D16S3017, D16S3041, D16S3036, D16S749, D16S3046, D16S2619, D16S312, D16S501, D16S401, D16S499, D16S764), saturando la región de 10 cM entre los marcadores D16S500 y D16S3041. Los marcadores microsatélites fueron amplificados por medio de PCR y evaluados en un secuenciador automático ALF Express-Pharmacia.

Los haplotipos y los árboles genealógicos fueron analizados por medio del programa Cyrillic. Se realizó análisis "multipoint" para todas las familias estudiadas a través del programa Simwalk. Se obtuvo un Lod Score de 15.5, 6.93 y 5.56 para las familias 2, 8 y 13, respectivamente. Se verificó una recombinación en la familia 2 que hizo posible acotar la región de 10 cM a 2 cM entre los marcadores D16S764 y D16S3060.

El conocimiento del 2º borrador del genoma humano permite su análisis con programas como Genscan, GeneMarker y Combiner para evaluar los genes presentes en la región candidata. Para elegir los genes candidatos se valoraron específicamente varios aspectos: características de las proteínas codificadas, presencia de dominios transmembrana, grado de hidrofobicidad, péptidos señal y dominios relacionados con transporte de tipo catiónico. Además de las características funcionales de las proteínas, se estudiaron los EST ya descritos en las bases de datos y se verificó su expresión en el riñón.

Se presenta una estrategia para la identificación del gen responsable de la Enfermedad Quística Medular Autosómica Dominante tipo 2, mediante la utilización combinada de herramientas bioinformáticas de análisis del borrador del Genoma Humano, y Genética Molecular aplicada en nuestras familias, entre los genes candidatos presentes en esta región del brazo corto del cromosoma 16.

8

**Dominios PKD domains y dominio REJ: plasticidad y conformación 3D**

P. Calo-Mata, E. Riveira, M.A. García-González, W. Rezende, C. Quinteiro, F. Barros, X.M. Lens

Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, Molecular Medicine Unit-FINGO, Santiago de Compostela, Spain

La parte extracelular de la poliquistina-1 contiene 16 dominios PKD, cada uno de una longitud de unos 85 aminoácidos. Estos dominios PKD comparten una estructura de dos láminas beta plegadas en forma de sandwich, con tres y cuatro hebras, y un núcleo hidrofóbico, el motivo WDFGDGS, localizado en la hebra C. El dominio REJ tiene una longitud de unos 600 aminoácidos y comprende los exones 15 al 23, también en la parte extracelular de la proteína. Se ha encontrado que el dominio REJ presenta similitud con tres miembros de la familia de poliquistina recientemente identificados: suREJ1, suREJ3, y hPKDREJ. Esta homología sugiere que el dominio REJ podría estar involucrado en la regulación del transporte iónico.

Se han estudiado los polimorfismos y mutaciones en la línea germinal en 190 pacientes no relacionados diagnosticados como PKD1. Nuestro objetivo es el estudio del impacto de las sustituciones de aminoácidos, patogénicas o no en la plasticidad de los dominios PKD y del dominio REJ, y en las estructuras 3D de estos dominios. Para la búsqueda de mutaciones y polimorfismos, se llevó a cabo el estudio de secuenciación y co-segregación para los exones 5 (dominio 1), 11 y 12 (dominios 2, 3, 4), 13 y 14 (dominios 5 to 7), 15 (PKD dominios 8 to 16) y exones 15 al 23, (dominio REJ). Mediante el uso de programas bioinformáticos para construcción de estructuras como InsightII (Accelrys), SWISS-MODEL, PROCHECK, WHAT IF, JPRED y PSIPRED, se estudió el efecto de estos cambios en el modelo teórico de su estructura 3D (índice I3 implementado en el sistema TOP-GEN y docking usando el módulo AFFINITY del paquete INSIGHT II).

Se analizaron los siguiente cambios: PKD dominio 4: M1092T, L1102, V1091H. PKD dominio 5: A1124, V1271G, P1175S. PKD dominio 7: L1357, A1368V. PKD dominio 8: W1399R, R1436X. PKD dominio 9: A1496, L1499, L1508, A1555. PKD dominio 10: T1558, S1567I, Y1580N, D1586Y, N1608H, N1615. PKD dominio 12: A1725, V1732I. PKD dominio 13: T1853N. PKD dominio 14: R1920C, L1921, R1951Q. PKD dominio 15: R2051H. Hemos encontrado nueve mutaciones patogénicas localizadas en el dominio REJ: 2359deG; S2481R, K2483X; E2621X; R2639X; M2760T, R2761P, L2763V, R2430L, y un polimorfismo: H2638R y S2745.

Nuestros resultados muestran que en los dominios PKD y REJ en la poliquistina-1 existe una gran plasticidad con una amplia variabilidad en su estructura primaria. El impacto de los cambios que ocurren naturalmente en las estructuras podría ser predictivo de la patogenicidad.

9

" VARIABILIDAD INTRA-FAMILIAR EN LA PROGRESION DE LA INSUFICIENCIA RENAL EN LA POLIQUISTOSIS".

A. Persu , P. Calo-Mata, M. García-González, W. Rezende, E. Riveira, T. Messiaen, Y. Pirson, D. Chauveau, O. Devuyt, X.M. Lens.

Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela  
 Université Catholique de Louvain Medical School, Brussels  
 KUL Medical School, Leuven,  
 Hôpital Necker, Paris.

La Poliquistosis Renal Autosómica Dominante evoluciona de forma muy dispar en cuanto a la edad de aparición de la Insuficiencia Renal Terminal. Un dato orientativo es que la mitad de los pacientes la desarrolla a los 60 años. Existe una gran variabilidad INTER-FAMILIAR (entre las diferentes familias) en la edad en que comienzan tratamiento sustitutivo explicable por la heterogeneidad genética ( PKD1 tiene peor evolución que PKD2 ) o la naturaleza singular de cada mutación.

Existe poca información del grado de variabilidad INTRA-FAMILIAR ( enfermos pertenecientes a la misma familia). Se han encontrado pequeñas diferencias en un grupo de 7 gemelos homocigóticos (media de 25 meses, intervalo de 18 m. hasta 6 años.) que podría explicarse por la influencia ambiental o de otros genes, en sustento de la teoría del segundo evento ("second hit"). Un abordaje sería el estudio de un gran número de pares de hermanos ("sib-pairs") en el que al compartir un ambiente similar, las diferencias encontradas se explicarían por otros factores de tipo genético. Previamente demostramos que los polimorfismos Glu 298 Asp en el gen de la Óxido Nítrico Sintetasa modificaban la edad de Insuficiencia Renal Terminal ( Hum Mol Gen. 2002; 11: 229-241 ).

Se han estudiado 153 pacientes pertenecientes a 63 familias, en las que al menos un enfermo (caso índice) había alcanzado la Insuficiencia Renal Terminal. Fueron incluidos aquellos hermanos que o bien se encontraban en esa situación clínica o ya habían superado esa edad. Se descartó PKD2 mediante ligamiento en las familias informativas.

La edad de comienzo de Diálisis osciló entre 33 y 69 a. ( media: 51,3 ). Precisarón tratamiento sustitutivo el 81% antes de los 60. Mantenían función renal 4 pacientes con edades superiores a los 70 a.

La variabilidad INTRA-FAMILIAR media fue de 8.3 + 0.7 ( r2 0.64, p< 0.001 ) y las diferencias en la edad de tratamiento sustitutivo en los pares fueron muy variables (de 0 a 23 a.). Hubo una diferencia superior a 6 a. en el 57% y superior a 10 a. en el 30% de los pares. No se detectó efecto en los pares de diferente sexo ( p < 0.7 ).

Se demuestra una elevada variabilidad intrafamiliar en la edad de aparición de la insuficiencia renal terminal en la Poliquistosis. Está justificada la necesidad de un estudio multicéntrico de pares de hermanos para la detección de otros genes modificadores.

10

NEFROPATÍA DEL COLAGENO IV: ESTUDIO MOLECULAR DE LOS GENES COL4A3, COL4A4 Y COL4A5

Roser Torra, Bárbara Tazón, Manuel Praga, Cèlia Badenas, Xosé Lens, Jose A Ballarín, Pedro Barceló  
 Fundació Puigvert. Hospital Clinic. Barcelona. Hospital 12 de Octubre, Madrid. Hospital General. Santiago de Compostela.

Se ha sugerido que mutaciones en los genes del colágeno IV están implicadas en una diversidad de patologías renales. El conocimiento de las bases moleculares de las enfermedades nos está permitiendo, en la actualidad, adentrarnos en las bases fisiopatológicas de las mismas así como establecer una nueva "clasificación" de las enfermedades. El objetivo del presente estudio es demostrar la implicación del los genes del colágeno IV no sólo en el Sd Alport ligado al cromosoma X (XLAS) sino también en el Sd de Alport autosómico recesivo (ARAS) y en la hematuria familiar benigna (HFB). Hemos analizado las mutaciones en los 52 exones del gen COL4A3 y en los 48 exones del gen COL4A4 en 11 familias afectas de HFB y en 13 familias afectas de ARAS. Asimismo se ha realizado el análisis de ligamiento en 18 familias afectas de XLAS mediante marcadores del gen COL4A5.

Se han detectado mutaciones en los genes COL4A3/4 en 6 de las 11 familias con HFB y en 8 de las 13 familias afectas de ARAS. En 3 familias se han hallado las 2 mutaciones causantes de la enfermedad en cada familia y, en dos casos, la mutación causante de HFB se ha hallado en otra familia con ARAS como heterocigota compuesta.

Podemos concluir que la enfermedad renal por alteraciones del colágeno IV es una entidad en sí misma y la severidad de la misma viene dada por la repercusión funcional que las mutaciones en los genes COL4A3/4/5 tienen, sobre la formación de la triple hélice de colágeno IV, componente esencial de la membrana basal glomerular. Distintos grados de desestructuración de esta triple hélice darían lugar a un cuadro clínico que oscilaría desde una hematuria monosintomática hasta proteinuria de rango nefrótico e insuficiencia renal.