

71

**ESTUDIO DE ENZIMAS TUBULARES EN PERSONAL DE VUELO SOMETIDO A HIPOXIA RELATIVA.** J. Martín Navarro, F. González Villalobos, A. Lopez Guzman, P. Calzado, C. Albarraçin Serra, E. Ruiz Cicero, E. González Parra. Servicio de Nefrología. Hospital del Aire. Madrid.

Se ha demostrado como la hipoxia renal secundaria a diversas patologías es responsable de daño tubular. No ha sido estudiado este mecanismo patogénico en personas sanas sometidas a hipoxia. Los pilotos de aviones de transporte están sometidos a una hipoxia relativa durante los periodos de vuelo.

**OBJETIVOS:** Determinar si la hipoxia relativa a la que están sometidos los pilotos de aviones de transporte, no presurizados, ocasionan algún tipo de daño tubular.

**PERSONAS Y METODOS:** Se seleccionaron 26 pilotos sanos, no fumadores, con función renal normal, normotensos y que no estaban bajo ningún tratamiento. Con una edad media de 41 años (23-58 años), todos ellos varones, que ha permanecido volando una media de 80 horas durante el último mes, a una altura media de 7763 mts. En todos ellos se ha determinado en orina de 8 horas, los niveles de proteinuria, microalbuminuria,  $\beta_2$  microglobulina ( $\beta_2$ -M), Alaninoaminopeptidasa (AAP), Enzima convertidora de angiotensina (ECA), N-Acetilglucosaminidasa (NAG). Las tres primeras se ven alteradas cuando existe daño celular, mientras que la NAG puede elevarse también cuando existe una alteración en la función celular tubular, al ser filtrada por el glomérulo. Como grupo control se seleccionaron 10 controladores aéreos de la misma edad e igualmente todos varones.

**RESULTADOS:** Se descartó en todos ellos una proteinuria y microalbuminuria patológica. La  $\beta_2$ -M en controles (C) vs pilotos (P) 0.875 (p<0.05) vs 1.23  $\pm$  0.67. NAG de 8.35 $\pm$ 5.78 vs 6.35 $\pm$ 3.52 (n.s.), la AAP de 11.75 $\pm$ 4.74 vs 11.49 $\pm$ 6.43 (n.s.) y ECA 86.30 $\pm$ 5.33 vs 191.52 $\pm$ 128.69 (p<0.005). Existe una eliminación urinaria aumentada en pilotos de  $\beta_2$ -Microglobulina y de enzima convertidora de angiotensina. No existe un incremento en la eliminación de alaninoaminopeptidasa y N-acetilglucosaminidasa. Ambas enzimas son marcadores de daño celular. No se eleva la AAP al ser una enzima que pesa a ser marcador de daño tubular, es más difícil objetivar variaciones en patologías con pequeño daño tubular.

**CONCLUSIONES:** Se objetiva un mínimo incremento en la eliminación de enzimas de origen tubular en el grupo de pilotos, pudiendo deberse a una afectación tubular en este colectivo y que ponemos en relación con la hipoxia relativa a la que están sometidos.

**GEN DEL ENZIMA DE CONVERSIÓN DE LA ANGIOTENSINA (ECA) Y NEFROPATÍA DEL REFLUJO (NR).**

Gallego N\*, Tellería D\*\*, Estepa R\*, Marcén R\*, Villafraña JJ\*, Fernández-Lucas M\*, San Millán JL\*\*, Ortuño J.\* Servicios de Nefrología\* y Genética Molecular\*\*. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

La morfología del gen del ECA parece influir en la evolución de ciertas nefropatías. En la NR solo se ha estudiado en relación con la aparición de escaras. Por ello, hemos intentado ver si juega un papel en la evolución de la NR a la insuficiencia renal terminal (IRT).

Se han revisado 23 enfermos con reflujo bilateral o unilateral en riñón único, 45 unidades refluventes (UR) y de grado III o superior, 16 enfermos fueron intervenidos. Se dividieron en 2 grupos según su situación final: I) Función renal normal y II) IRT.

	HTA	UR	Cirugía	Edad inicial	Edad fin/IRT
I (n=10)	0	20	16	3.3 $\pm$ 3.1*	13.9 $\pm$ 2.5**
II (n=13)	3	25	13	10.4 $\pm$ 6.5*	17.9 $\pm$ 5.2**

\*p=0.004, \*\*p=0.025

El genotipo ECA y la concentración de ECA sérica fueron:

	DD	DI	II	P
I (n=10)	5	4	1	
II (n=13)	7	6	0	
Controles (n=100)	30	49	21	
ECA (n=19)	50.4 $\pm$ 20.4	21.7 $\pm$ 17.7	17	0.0277

La frecuencia alélica D (%) fue superior en el total de los enfermos que en la población normal 74 vs 54 (p=0,025), pero el genotipo no fue diferente (p=0.0575).

En el grupo II según el genotipo se observó:

	DD (n=7)	DI (n=6)	P
Edad IRT	14.5 $\pm$ 3.2	21.7 $\pm$ 5.2	0.0137

**Conclusiones:** 1) El alelo D es más frecuente en los casos con NR que en los controles. 2) Los niveles de ECA fueron superiores en los DD. 3) El genotipo DD del ECA puede ser un factor pronóstico más de la evolución a la IR de la NR.

72

73

**ESTUDIO DEL AGOTAMIENTO DE LA CAPACIDAD DE CONCENTRACION RENAL**  
A.VILA, R.VILALTA, E.LARA,A.MADRID, L.CALLIS.  
S.NEFROLOGIA PEDIATRICA.H. INFANTIL VALL D'HEBRON. BARCELONA.

**OBJETIVO:** Estudiar nuestra observación clínica del agotamiento que se produce en la capacidad de concentración renal antes de finalizar el test hidropénico de 12 horas.

**MATERIAL Y METODOS:** Fueron estudiados 22 niños sanos en regimen hospitalario (15 niños, 7 niñas; edad media 4-14 años; media 8.2 $\pm$ 1.6 años; peso corporal rango 15-58 kg. (media 32.5 kg), que habían seguido una dieta estandar de 75 kcal/kg/día durante un periodo de tres días previo a la prueba.

La función renal era normal en todos, con un filtrado glomerular entre 104 y 154 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> (media 123 $\pm$ 17). Todos los pacientes fueron sometidos a un periodo de restricción hídrica de 12 horas, que comenzaba a las 20 horas del día 1 y que finalizaba a las 8 h. del día siguiente. Se efectuaron cinco recogidas de orina a intervalos de tres horas, asegurando un vaciado completo de vejiga. Se determinó la osmolaridad urinaria en cada muestra con un osmómetro estándar. Los niveles de ADH plasmático se determinaron en tres momentos, inicio, punto medio y final de la prueba.

**RESULTADOS:** Los 22 niños estudiados presentaron una capacidad de concentración urinaria normal con valores de osmolaridad máxima urinaria oscilando entre 906 y 1138 mOsm/l (media 1064 $\pm$ 65,2). La osmolaridad máxima urinaria fue obtenida en quince niños (68%) a las 6 horas del comienzo del test, y a las 9 horas en otros 7 (32%). La muestra final, correspondiente a las 12 horas desde el comienzo del test, dió siempre unos valores de osmolaridad urinaria inferiores a los obtenidos previamente entre 42 y 332 mOsm/l. Los valores de ADH al comienzo del test fueron de 2.14 $\pm$ 1.33 pgc/ml (rango 0.27-4.5), elevándose progresivamente hasta el fin del test: 5.41 $\pm$ 4.41 pgc/ml. (rango: 2.23 a 15.9) (p<0.001). Estos resultados confirman la eficacia del estímulo y por otra parte que la secreción de aADH no está implicada en la falta de progresión y posterior disminución de la osmolaridad urinaria. En los 22 niños se consideraron las variables que podían haber influenciado los resultados del test. Todos tenían una edad superior a cuatro años y habían seguido la misma dieta en los tres días previos al test.

**CONCLUSIONES:** El estudio de la capacidad máxima de concentración urinaria no precisa ser prolongado a 12 horas, puesto que el valor más alto se obtiene entre las 6 y 9 horas. Una posible explicación para este hecho puede ser: 1) La limitación de la capacidad de generación de gradiente osmótico intersticial producido por la reabsorción activa y pasiva de cloruro sódico. 2) El agotamiento del sistema adenil-ciclasa-ATP-AMPC, lo cual afectaría la difusión de agua desde los tubulos distal y colector al intersticio renal.

- Aceptado Póster
- Aceptado Presentación Oral

74

**LESION RENAL EN PACIENTES CON LITIASIS DE OXALATO CALCICO TRATADOS CON LITOTRIZIA EXTRACORPOREA POR ONDAS DE CHOQUE (LEOC).** E. González Villalobos, R. Diz Rodríguez (\*), E. González Parra, J. Martín Navarro, M. Rodeles del Pozo, P. Sánchez de la Muela (\*), J. Vallejo Herrador (\*). Servicios de Urología (\*) y Nefrología. Hospital del Aire. Madrid

**INTRODUCCION:** La LEOC es la técnica de elección en el tratamiento de las litiasis renales (LR). El mecanismo de acción son ondas electromagnéticas que inciden sobre el cálculo, y colateralmente pueden incidir sobre el parénquima y lesionarlo.

**OBJETIVOS:** Determinar el daño tubular y glomerular secundario a tratamientos con LEOC y establecer el tiempo de recuperación de esa lesión.

**MATERIAL Y METODOS:** Se han seleccionado 10 pacientes con edad entre 20-60 años, y litiasis renal de oxalato cálcico única y menor de 2 cm., con función renal normal. Se les ha sometido a tratamiento con LEOC aplicandose 4000 impactos, con una potencia entre 15-17 Kvol. En ningún caso se les administró líquidos intravenosos ni analgesia antes ni durante la sesión.

Se determinó previamente al tratamiento (T<sup>0</sup>), a las 24 horas (T<sup>1</sup>), 4 y 10 días (T<sup>2</sup> y T<sup>3</sup>) los siguientes parámetros: En orina de 12 horas microalbuminuria (mg/L), proteinuria, enzimuria tubular: N-acetilglucosaminidasa (NAG) (U/L), Alaninaaminopeptidasa (AAP) (U/L).

**RESULTADOS:** No se objetiva proteinuria en ninguna de las muestras. La evolución de la microalbuminuria ha sido T<sup>0</sup> 6.32 $\pm$ 20.44, T<sup>1</sup> 458.35 $\pm$ 144.19, T<sup>2</sup> 28.15 $\pm$ 35.4, T<sup>3</sup> 8.5 $\pm$ 10.8, entre T<sup>0</sup> y T<sup>1</sup> y T<sup>1</sup> y T<sup>2</sup>, con T<sup>2</sup> p<0.05, mientras que entre T<sup>2</sup> y T<sup>3</sup> no es significativo. Con respecto a la NAG T<sup>0</sup> 4.572 $\pm$ 3.186, T<sup>1</sup> 7.572 $\pm$ 3.855, T<sup>2</sup> 4.483 $\pm$ 3.617 y T<sup>3</sup> 4.753 $\pm$ 2.215. La AAP T<sup>0</sup> 6.972 $\pm$ 4.001, T<sup>1</sup> 11.845 $\pm$ 4.987, T<sup>2</sup> 10.126 $\pm$ 5.339 y T<sup>3</sup> 7.066 $\pm$ 2.616. El comportamiento estadístico de ambas enzimas tubulares es similar al de la microalbuminuria.

**CONCLUSIONES:** Tras la LEOC se produce un aumento significativo de la microalbuminuria y enzimuria tubular en las primeras 24 horas, que se recupera paulatinamente a los 4 días, y retorna a la normalidad a los 10 días.

**ANÁLISIS DE LIGAMIENTO AL CROMOSOMA 6 EN FAMILIAS ESPAÑOLAS CON POLIQUISTOSIS RENAL AUTOSÓMICA RECESIVA.**  
 V. Álvarez<sup>1</sup>, S. Malaga<sup>2</sup>, M. Navarro<sup>3</sup>, L. Espinosa<sup>4</sup>, E. Hidalgo<sup>4</sup>, J. Badía<sup>5</sup>, R. Álvarez<sup>1</sup>, E. Coto<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Genética Molecular; <sup>2</sup>Servicio de Nefrología Pediátrica; Hospital Central de Asturias, Oviedo, Spain; <sup>3</sup>Servicio de Nefrología Pediátrica, Hospital La Paz, Madrid, Spain; <sup>4</sup>Hospital Infantil de Badajoz, Badajoz, Spain; <sup>5</sup>Hospital General de Castellón, Castellón, Spain.

#### Introducción

La poliquistosis renal autosómica recesiva (PQR) es una de las nefropatías hereditarias más frecuentes. Muchos de los pacientes son diagnosticados en periodo perinatal presentando una forma severa de la enfermedad. En otros casos, los pacientes presentan una forma menos severa, y sobreviven hasta la edad adulta. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son aumento del tamaño de los riñones, disgenesia biliar y fibrosis portal. Se ha sugerido la existencia de al menos 2 genes para la PQR. Uno de estos genes, PKHD1, se ha mapeado en el cromosoma 6p21.1-p12, pero aún no ha sido secuenciado. El estudio en familias permite la detección de individuos recombinantes, y permitiría restringir el intervalo óp que contiene el gen, facilitando su clonación.

#### Pacientes y métodos

Hemos estudiado 30 familias españolas con al menos 1 hijo afectado, y un hijo sano. En 20 familias, el hijo afectado tenía una forma severa de la enfermedad, y las 10 restantes el paciente presentaba una forma más benigna. El diagnóstico de PQR se confirmó por parámetros clínicos y anatomopatológicos. Se obtuvo ADN genómico, y se realizó el análisis genético-molecular con 7 marcadores microsatélites, a fin de construir los haplotipos óp.

#### Resultados y conclusiones

En todas las familias el ligamiento a 6p21 fue positivo. En 2 casos, se identificaron individuos recombinantes en la región que contiene el gen PKHD1. Estos resultados confirman la ausencia de heterogeneidad genética en el ligamiento a 6p21, lo que sugeriría que mutaciones en un único gen, PKHD1, son responsables de las diferentes formas de presentación clínica de la PQR. Se discute la posible asociación entre las proteínas PKHD1 y las policistinas PKD1 y PKD2 en una vía común de citogénesis.

**CICLOXIGENASAS 1 Y 2 EN LA POLIQUISTOSIS RENAL AUTOSÓMICA DOMINANTE.**

M.A. García-González, M. García Vidal, S. Davila, M. Fraga, E. Pintos, J. Forteza, J. Gómez-Reino, X.M. Lens.  
 Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela.

La Poliquistosis Renal Autosómica Dominante presenta un perfil hemodinámico inusual, de manera que en su progresión a la insuficiencia renal se distingue por la ausencia de proteinuria y la falta de respuesta a los IECAs.

La Ciclooxygenasa (COX) es una enzima intermediaria de la biosíntesis de prostaglandinas. Se conocen 2 isoformas: COX-1 (forma constitutiva localizada en el endotelio vascular y túbulos colectores) y COX 2 (forma inducible, en mácula densa y asa de Henle cuyo modelo "knock out" presenta un fenotipo caracterizado por alteración en el desarrollo renal).

Se están estudiando 27 piezas de Nefrectomía pertenecientes a 21 enfermos poliquísticos cuyo diagnóstico molecular fue: gen PKD1 (11), PKD2 (2) y No informativos (14); y un grupo control de 10 riñones sanos.

El estudio inmunohistoquímico se efectúa con anticuerpos dirigidos contra epitopos de COX 1 y COX 2 (Cayman) en cortes de tejido fijado en formol e incluido en parafina. La inmunorreactividad se detecta por medio del sistema Envision (DAKO, Glostrup, Denmark), polímero con peroxidasa (PAP).

Se pretende averiguar cual es la distribución de las dos isoformas COX 1 y COX 2 en la fase avanzada de la Poliquistosis Renal Autosómica Dominante. El conocimiento de la vía de las prostaglandinas puede aportar una base racional para el control tensional y la inhibición de la progresión a la insuficiencia renal.

**MUTACIONES EN LA REGIÓN 5' DEL GEN DE LA POLIQUISTOSIS RENAL DEL ADULTO, PKD1.**

T.Cordal, M.A. García-González, M. García Vidal, S. Davila, R. Alonso, T. Watnick, G. Germino, X.M. Lens.  
 H. Clínico Univ. Santiago, H. Xeral Vigo. Johns Hopkins University.

El gen de la Poliquistosis Autosómica Dominante más frecuente y severa, PKD1, se localiza en el cromosoma 16. El 70% de su secuencia en la región 5' está replicada al menos en otros tres lugares del cromosoma lo que dificulta la detección de mutaciones.

Analizamos en 70 pacientes los exones 17, 18, 19, 23, 24 y 25 del gen localizados en la zona replicada, usando un *template* específico de PKD1. Para ello amplificamos por PCR dos zonas del gen: uno de 3.5 Kb desde el exón 15 al 21, usando un *primer* específico del gen con otro primer de la zona replicada; y un segundo fragmento de 10 Kb, desde el exón 23 al 34. Posteriormente hacemos una segunda PCR sobre estos *templates* para amplificar cada exón. Realizamos secuencia y análisis de restricción y co-segregación.

En el **Exón 17** encontramos una mutación en la Familia 7 (7287delG), además de un polimorfismo (C7376T) presente en el 53% de los casos estudiados. En el **Exón 18** aparece otro polimorfismo (C7652T) con una incidencia del 40%.

En el **Exón 23** hallamos 4 mutaciones idénticas en dos familias de diferente raza, Familia 1 y 2, (T8446G, T8490C, G8493C, T8688C). Además encontramos otra mutación en la Familia 1 (T8502C) y en la Familia 2 (C8498G). En la Familia 3 existe otra mutación (G8583A). En el **Exón 24** detectamos 2 mutaciones en la Familia 4 (T9124C y A38.794G). Finalmente en el **Exón 25** aparecen dos polimorfismos (G9406C que no cambia la proteína y T9407C con cambio proteico). En la Familia 5 encontramos una mutación (G9233C).

La correlación entre mutaciones específicas y variabilidad de la enfermedad es uno de los objetivos del estudio del gen. Hasta ahora no se ha podido establecer dicha relación debido al escaso número de mutaciones descritas.

**ENF. QUISTICA MEDULAR AUTOSÓMICA DOMINANTE: HETEROGENEIDAD Y REFINAMIENTO GENÉTICO EN 16p12.**  
 M.A. García-González, M. García Vidal, S. Davila, C. Quinteiro, F. Barros, M. Alonso, R. Alonso, A. Otero, X.M. Lens.  
 Clínico y Med Mol. de Santiago, Xeral y Meixacelo Vigo, Ourense.

La Enfermedad Quística Medular Autosómica Dominante (ADMCKD) es una nefropatía hereditaria que se caracteriza por el desarrollo de insuficiencia renal crónica terminal generalmente a partir de la cuarta década de la vida.

Se han estudiado 8 familias, 7 presentaban Gota, 3 Quistes y una Nefropatía Peridórea de Sal. Un total de 42 individuos estaban afectados, y 24 precisaron Tratamiento Sustitutivo con una edad media de comienzo de 49 años, intervalo 21-78.

Una familia presentaba ligamiento al locus ADMCKD 1 localizado en el cromosoma 1q21 ( D1S498 - 1153 - 1595 - 2125 ): haplotipo asociado a la enfermedad ( 193 - 286 - 288 - 104 ).

Los ligados al locus ADMCKD 2 en el cromosoma 16p12 (D16S500 - 3017 - 499 - 3036 - 3041 ) y aún siendo de procedencia geográfica distinta presentaban el mismo haplotipo asociado a la enfermedad: ( 197 - 180 - 225 - 164 - 262 ). Las recombinaciones observadas en ambas familias estrecharon el intervalo crítico hasta una zona acotada que incluye los marcadores D16S3036 y D16S3041 con una distancia física aproximada de 175 Kb. Las cuatro familias restantes fueron escasamente informativas.

La Enfermedad Quística Medular Autosómica Dominante (ADMCKD) es genéticamente heterogénea, existiendo al menos dos loci en 1q21 y 16p12. En ADMCKD 2 hay sospecha de desequilibrio de ligamiento y se ha refinado el intervalo crítico donde se halla el gen a una zona de 175 Kb.