

Anno 28 n. S53 Luglio-Agosto 2011

Giornale Italiano di Nefrologia

Organo della Società Italiana di Nefrologia

on-line: www.sin-italy.org

Numero speciale S53 dedicato agli:

ABSTRACT DEL 52°

CONGRESSO NAZIONALE

DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI NEFROLOGIA

Genova

21-24 Settembre 2011



ISSN 0393-5590

449 CO

I POLIMORFISMI DEL GENE CASR INCREMENTANO LA SUSCETTIBILITÀ ALLA NEFROLITIASI PER RIDUZIONE DELL'ESPRESSIONE DEL CASR NELLA MIDOLLARE RENALE

Rainone F., Soldati L., Aloia A., Terranegra A., Dogliotti E., Arcidiacono T., Vezoli G.

Unità di Nefrologia e Dialisi, IRCCS San Raffaele, Milano

Introduzione. Il calcium-sensing receptor (CaSR) è un gene candidato per la genesi della nefrolitiasi calcica idiopatica. In un nostro studio precedente abbiamo trovato un'associazione tra i polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) rs7652589 e rs1501899 della regione promotrice del CaSR e la nefrolitiasi calcica. L'allele minore a questi due SNPs è risultato più frequente nei calcolotici rispetto ai sani (rispettivamente $p=0.0009$ e $p=0.0004$) e nei pazienti con iperparatiroidismo primitivo affetti da calcolosi rispetto a quelli non affetti da calcolosi.

Metodi. Dopo questi studi, abbiamo eseguito un mapping della regione promotrice del CaSR, genotipizzando 312 calcolotici idiopatici e 213 controlli abbinati per età (rispettivamente 42 ± 0.6 e 41 ± 0.6) e sesso (rispettivamente 174/138 e 118/95).

Risultati. In questi individui, abbiamo identificato uno SNP (rs6776158), localizzato nel promotore 1, fortemente associato alla calcolosi. Il suo allele minore ha mostrato una frequenza più elevata nei calcolotici rispetto ai controlli (37.8% vs 26.4%, $p=0.005$). Poiché gli SNPs rs7652589, rs1501899 e rs6776158 non generano cambio aminoacidico, abbiamo ipotizzato che possano influenzare l'espressione del CaSR nella papilla renale favorendo la litogenesi. Al fine di testare l'espressione renale del CaSR abbiamo quantificato l'mRNA del CaSR mediante real time PCR in 109 campioni di midollare renale prelevati da soggetti nefrectomizzati per cancro (prelievo della parte non neoplastica del rene). I livelli di espressione del CaSR sono stati normalizzati su quelli del gene housekeeping GAPDH e sono quantizzati come ratio CaSR/GAPDH. Ciascun paziente nefrectomizzato è stato genotipizzato per gli SNPs rs7652589, rs1501899 e rs6776158. Nelle midollari dei soggetti omozigoti per l'allele minore allo SNP rs6776158 sono state osservate quantità inferiori di mRNA del CaSR ($n=12$, 1.69 ± 0.33) rispetto agli omozigoti o agli eterozigoti per l'allele ancestrale ($n=97$, 2.75 ± 0.22 , $p=0.016$). Una quantità inferiore di mRNA è stata osservata nei soggetti che presentano varianti alleliche agli SNPs rs6776158 e rs1501899 nel loro aploipote (2.70 ± 0.21 vs 1.28 ± 0.32 ; $p=0.0062$).

Conclusioni. I nostri risultati suggeriscono che l'espressione del CaSR sia diminuita nelle midollari renali dei soggetti con varianti alleliche agli SNPs testati. Poiché tali SNPs sono situati nella regione del promotore del CaSR, ipotizziamo che possano essere legati ad una riduzione dell'attività del CaSR condizionante: 1) una riduzione del riassorbimento di fosfati nel tubulo prossimale e una maggiore delivery distale; 2) un ridotto effetto diuretico e acidificante nel dotto collettore. Una ridotta espressione del CaSR nella midollare renale potrebbe aumentare la suscettibilità alla nefrolitiasi di fosfato calcico favorendo la precipitazione Ca-P nel lume tubulare e a quella di calcio ossalato predisponendo la formazione della placca di Randall.

450 PO

OSSERVAZIONE DI UN GRUPPO FAMILIARE AFFETTO DA NEFROPATIA DI BERGER ED ANALISI MOLECOLARE DELLA REGIONE CANDIDATA SUL CROMOSOMA 6

Staffolani E., Nicolais R., Galli D., Miani N., Borzacchi M.S., Naticchia A., Sturmiolo A., Di Daniele N.

Nefrologia e Dialisi, Università Tor Vergata, Roma

La nefropatia di Berger è la glomerulonefrite più frequentemente diagnosticata al mondo. Nosologicamente è classificata tra le glomerulonefriti primitive mesangiali proliferative ad eziologia immunomediata. Essa è caratterizzata da episodi ricorrenti di macro/microematuria, associata o meno a proteinuria, e da depositi mesangiali di IgA. Sebbene la nefropatia a depositi di IgA non sia tradizionalmente considerata una malattia ereditaria, l'osservazione di un'ampia variabilità di incidenza regionale ed etnica, di ricorrenza in popolazioni isolate, di diffusione in aggregazioni familiari e di linkage specifico con definite regioni cromosomiche induce oggi a considerare questa patologia come un'entità complessa in cui fattori ambientali e predisposizione genetica ne determinano insorgenza e progressione. Abbiamo studiato una famiglia, nella quale questa patologia segrega con la modalità mendeliana di un tratto autosomico dominante, utilizzando un approccio di tipo "gene candidato posizionale", scegliendo la regione 6q22-q23 (IGAN1). Abbiamo analizzato quattro generazioni di un gruppo familiare caratterizzato da alta incidenza di nefropatie nel suo pedigree (15/40 casi) e da grande natalità. L'obiettivo è stato di intraprendere una valutazione clinico-laboratoristica e molecolare al fine di confermare: 1) la presenza di una regione genomica responsabile della nefropatia; 2) l'associazione tra precocità di insorgenza e maggiore gravità di espressione con il progredire generazionale. Il DNA dei 30 pazienti è stato genotipizzato con 5 marcatori microsatelliti (D6S408; D6S1958; D6S1075; D6S262 e D6S457) della regione genomica 6q22-23. L'analisi di linkage è stata condotta mediante l'utilizzo del programma LIPED 1993 per il two-point (fenotipo/locus marcatore). L'intervallo fra i loci analizzati è stato così limitato di circa 6 megabasi. L'analisi di linkage two-point ha mostrato valori massimi di 2.107 a frazione di ricombinazione

0 per i marcatori D6S1705 e D6S262. Inoltre, in questo pedigree si presenta anticipazione genetica, ovvero del fenomeno per cui di generazione in generazione il rischio di manifestare una glomerulonefrite, come di una sua più rapida progressione, aumenta progressivamente.

451 PO

CHILDREN WITH ISOLATED CONGENITAL RENAL ANOMALIES; ABSENCE OF SIX1 GENE MUTATIONSArtifoni L.¹, Negrisola S.¹, Centi S.¹, Benetti E.², Ghirardo G.², Della Vella M.¹, Murer L.²¹Laboratorio di Immunopatologia e Biologia Molecolare del Rene; ²Unità Operativa di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Dipartimento di Pediatria "Salus Pueri", Università di Padova, Padova

Introduction. The mammalian Six transcriptional factors genes family comprises six members (Six1-6). Their products share two highly conserved domains, the Six domain and the homeodomain. The SIX domain (SD) is responsible for protein-protein interaction, while the homeodomain (HD) is essential for protein-DNA binding. Six genes are widely expressed in many tissues in mammalian organogenesis, including developing ear, branchial arch, and kidney. Six1, homologous to the *Drosophila sine oculis* is a crucial regulator of renal development expressed in the metanephric mesenchyme (MM) before the initiation of ureteric bud (UB) branching morphogenesis. The human SIX1 gene maps to chromosome 14q23.1 and consists of 2 exons coding for a transcription factor of 284 amino acids that belongs to six/sine oculis homeobox family. Mutations in human SIX1 gene cause branchiootorenal (BOR) or branchiootic (BO) syndrome. Six1^{-/-} mice exhibit renal agenesis. To our knowledge, SIX1 gene has never been examined in humans with nonsyndromic congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT).

Materials and Methods. We investigated whether mutations or deletions of this gene are associated with congenital renal disorders. 30 unrelated children and young adults with CAKUT (hypo/dysplasia with or without associated primary vesicoureteric reflux, renal agenesis) were retrospectively recruited for SIX1 sequence variations analysis. All patients did not have hearing loss or branchial arch defects. SIX1 coding sequence was screened by HRMA and direct sequencing. A quantitative comparative Real-time was performed in order to detect the presence of SIX1 gene deletion.

Results and Discussion. We did not find mutations or deletions in SIX1 coding regions in our population. Our findings suggest that alterations in the SIX1 coding sequence of gene are probably not a major cause of nonsyndromic CAKUT. Further studies are needed, both to increase the number of patients to be tested, both for analyzing non-coding regulatory regions of SIX1 gene.

452 PO

MUTAZIONI DEL GENE HNF1B ASSOCIATE AD ANOMALIE RENALI CONGENITECaridi G.¹, Dagnino M.¹, Lugani F.¹, Bodria M.¹, Giachino D.², De Marchi M.², Amoroso A.³, Scolari F.⁴, Rampoldi L.⁵, Ghiggeri G.M.¹, a nome del "Consorzio Italiano Malattia Cistica della Midollare"¹Lab. di Fisiopatologia dell'Uremia e U.O. di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Istituto G. Gaslini, Genova; ²Dip. di Scienze Cliniche e Biologiche; ³Dip. di Genetica, Biologia e Biochimica, Università di Torino, Torino; ⁴Div. di Nefrologia, Ospedale di Montichiari, Brescia; ⁵Dulbecco Telethon Institute, Div. di Genetica e Biologia Cellulare, IRCCS San Raffaele, Milano

Introduzione. Il gene HNF1B (Hepatocyte Nuclear Factor 1-beta), è un fattore trascrizionale fondamentale per lo sviluppo e la differenziazione del pancreas e del rene. Mutazioni del gene HNF1B sono associate nell'uomo ad anomalie congenite del rene e del tratto urinario, atrofia pancreatica, Maturity-Onset Diabetes of the Young di tipo 5 (MODY5) e malformazioni genitili.

Disegno e Metodi. Scopo del presente lavoro è stato la caratterizzazione molecolare del gene HNF1B in nuclei familiari (n° 37 per un totale di 109 individui) e singoli casi sporadici (n° 170) con fenotipo clinico quale reni iper-ecogeni con dimensioni non superiori a +2.5 SD, reni multicistici, agenesia renale monolaterale, ipoplasia renale, rene a ferro di cavallo, displasia cistica o nefropatia tubulointerstiziale iperuricemica non associata a mutazione del gene UMOD.

Risultati. Sono state identificate 33 mutazioni del gene HNF1B comprendenti 1 duplicazione e 11 delezioni complete del gene, 7 piccole delezioni/insertioni, 6 mutazioni missense, 6 nonsense e 2 mutazioni a carico di sequenze di splicing, in 17 nuclei familiari (46%) e in 16 casi sporadici (9.5%). I fenotipi clinici associati a mutazione di HNF1B comprendono alterazioni renali quali ipoplasia e/o displasia renale cistica (96%) associate talvolta a malformazioni del tratto urinario (30%). Iperuricemia e ipomagnesemia sono frequentemente associate (86%) mentre le alterazioni del metabolismo glucidico sono presenti con minore frequenza (5.5%). È stata osservata variabilità fenotipica intra e inter-familiare associata all'età di insorgenza dell'insufficienza renale cronica.

Conclusioni. Questo studio ha dimostrato che la severità della malattia renale associata a mutazione del gene HNF1B è estremamente variabile ma non è correlata al tipo di mutazione identificata o al nucleo familiare.