

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia



**PREVALÊNCIA, PERFIL CLÍNICO E MOLECULAR
DE PACIENTES COM DOENÇA RENAL
POLICÍSTICA DO ADULTO NO SUL DO BRASIL**



Ane Cláudia Fernandes Nunes

Brasil, 2006

Ane Cláudia Fernandes Nunes

**PREVALÊNCIA, PERFIL CLÍNICO E MOLECULAR
DE PACIENTES COM DOENÇA RENAL
POLICÍSTICA DO ADULTO NO SUL DO BRASIL**

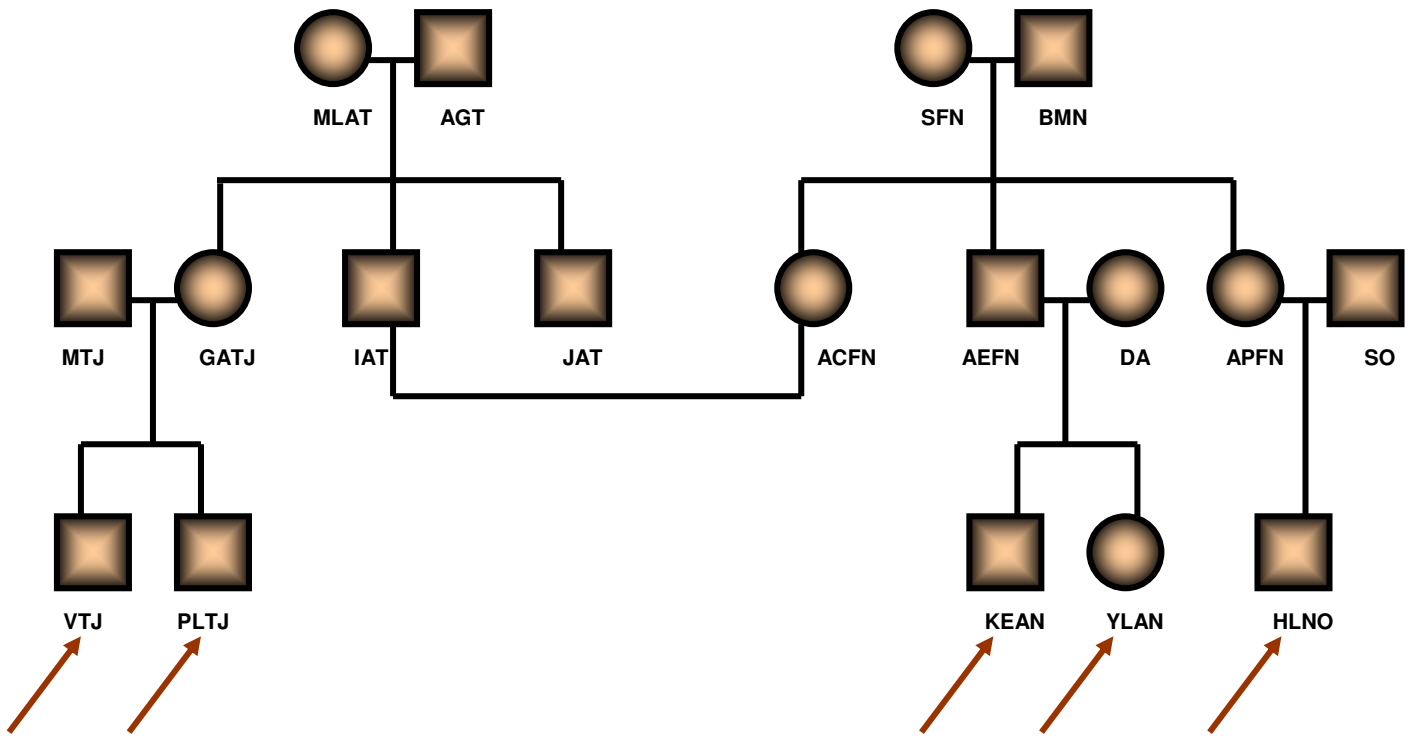
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia, como parte dos pré-requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências Médicas: Nefrologia.

Orientador: Prof. Dr. Elvino Barros

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia

Co-Orientador: Prof. Dr. Israel Roisenberg

Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular



*Aos meus sobrinhos,
Heitor, Kevin, Yasmin, Victor e Paulo,
 por serem minhas fontes de alegria e estímulo.*

AGRADECIMENTOS PROFISSIONAIS

Ao **Prof. Elvino Barros**, pela orientação, pela oportunidade de desenvolver esse estudo e pela amizade conquistada ao longo da pós-graduação;

Ao **Prof. Israel Roisenberg**, pela co-orientação, pelo cuidado atento com que sempre me atendeu e pelo carinho e amizade que tenho desde minha iniciação científica;

Ao **Prof. Alvimar Delgado**, pela acolhida e confiança, mas principalmente pela amizade que ampliou ainda mais minhas perspectivas e tranqüilizou essa fase de transição na carreira e na vida;

Ao **Tiago da Veiga Pereira**, pela colaboração estatística e amizade que iniciaram com uma orientação de iniciação científica e se firmou como uma parceria inesgotável;

Aos amigos/orientados **Vagner Milani, Daiana Benck, Cristiane Mattos, Jonathan Bonatto e Liana Rossato**, por terem colaborado na continuidade desse estudo e por terem acreditado nessa proposta. Mas principalmente, pela amizade que se estabeleceu entre nós;

Aos alunos, **Edson Piccoli, Renata Brunetto, Eduardo Zanin, Cassiane Chagas, Thelma de Maio, Matheus Weber, Cristian Dóro e Daniel Costa**, por terem contribuído nas etapas iniciais desse estudo;

Aos colegas do PPG-Nefrologia, em especial **Esther Dias, Sérgio Prezzi, Sheila Thofehr e Virna Carpio**, pelo agradável convívio;

Aos **médicos, enfermeiras e secretárias** dos Serviços de Hemodiálise de vários municípios do Rio Grande do Sul, devidamente identificados nos agradecimentos do artigo científico publicado a partir desta tese, por permitirem as coletas dos dados utilizados nesse estudo;

Ao **PPG - Nefrologia** pela viabilização desse projeto e oportunidade de finalização desta tese;

Ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, através do Programa de Financiamento à Pesquisa (**FIPE/HCPA**), à Comissão Permanente de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (**CNPq**) pelo fomento e suporte técnico-científico.

AGRADECIMENTOS PESSOAIS

Aos meus pais, **Suzana** e **Bezerra**, pelo exemplo, dedicação, ajuda, confiança e amor;

Aos meus irmãos, **Anderson** e **Aline**, por todas as alegrias e preocupações compartilhadas, sem as quais não teríamos crescido;

Aos meus sogros, **Maria de Lourdes** e **Acyr**, pela gentil acolhida que possibilitou a finalização deste trabalho;

A minha melhor amiga, **Daniela**, por entender e mostrar que nem o tempo nem a distância poderão modificar o que sentimos uma pela outra;

A amiga **Doralice**, pela compreensão, confiança e alegria que sempre me recebe, acolhe e ajuda;

Ao meu amigo **Michel**, que embora tenha partido cedo demais, ajudou muito na construção dos meus valores e na seleção de minhas escolhas;

Aos amigos, **Eduardo, Rodrigo, Paula, Vagner, Daiana, Everton, Claudemir, Kelly, Alexandre, Mauro, Amancio** e **Tanise**, pelas discussões e conversas fiadas, igualmente importantes no trabalho e na vida;

Ao **Ivan**, por sempre acreditar em mim, incentivar minhas idéias, compreender meus erros, mas principalmente, por aceitar as incoerências de um casamento tão surpreendente como o nosso: pautado na mútua vontade de ver o outro crescer e ser feliz. Eu te amo!

SUMARIO

<i>Apresentação e Sumário</i>	II
<i>Lista de Figuras</i>	VII
<i>Lista de Tabelas</i>	VIII
<i>Lista de Abreviaturas</i>	IX

INTRODUÇÃO	11
Doença Renal Policística do Adulto	11
Aspectos Epidemiológicos	12
Aspectos Clínicos	14
Aspectos Genéticos	17
A História das Descobertas Moleculares	19
O gene <i>PKD1</i> e a Policistina-1	22
O gene <i>PKD2</i> e a Policistina-2	25
O gene <i>PKD3</i> e a Policistina-3	29
Funções e Expressão Gênica das Policistinas	30
Controle da Cistogênese	38
Outras Interações Moleculares	41
ARTIGO	45
Prevalência, perfil clínico e molecular de pacientes com doença renal policística no sul do Brasil	46
Prevalence, clinical and molecular profile of patients with polycystic kidney disease in South Brazil	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
ANEXOS	101
A) Termo de Consentimento Informado	102
B) Resoluções do Comitê de Ética	104

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Nº	TÍTULO	PÁGINA
1	Formação do cisto renal através da proliferação celular	11
2	Representação esquemática dos mecanismos envolvidos na etiopatogenia dos rins policísticos	15
3	Diferentes formas de visualização de rins policísticos	15
4	Ideogramas dos cromossomos 16 e 4	21
5	Representação esquemática do gene <i>PKD1</i>	22
6	Representação esquemática da composição protéica, localização e interação entre a policistina-1 e policistina-2 na membrana celular	23
7	Representação esquemática do mecanismo de inativação alélica em <i>PKD1</i> ou <i>PKD2</i>	25
8	Representação esquemática do gene <i>PKD2</i>	26
9	Modificação na interpretação do mecanismo de atuação da policistina-2 como canal de Ca ²⁺ não seletivo	27
10	Distribuição celular das policistinas e seus papéis na adesão célula-célula e célula-matriz	29
11	Ilustração da hPKD1, proteína homóloga a policistina-1 que foi descrita em humanos	31
12	Ilustração da hPKD2, proteína homóloga a policistina-2 que foi descrita em humanos	32
13	Ilustração da hPKDREJ, proteína homóloga a policistina-1 e ao receptor espermático de equinodermatas e que foi descrita em humanos	35
14	Ilustração da suREJ1, proteína do receptor espermático de equinodermatas	36
15	Ilustração da suREJ3, proteína do receptor espermático de equinodermatas e homóloga a policistina-1	36
16	Ilustração da Lov-1, proteína homóloga a policistina-1 descrita em <i>C. elegans</i>	37
17	Mecanismo de inversão da polaridade do fluxo iônico no epitélio ciliar	39
18	Complexo de macromoléculas envolvendo as policistinas	43

LISTA DE TABELAS

Área	Nº	TÍTULO	PÁGINA
Cap I	1	A doença renal policística em diferentes grupos étnicos	13
Cap II	1	Características gerais da população estudada	60
Cap II	2	Patologias associadas e sinais clínicos identificados	61
Cap II	3	Valores médios de marcadores bioquímicos e hematológicos	62
Cap II	4	Alterações nucleotídicas encontradas em pacientes ADPKD	63
Cap II	1	General population study characteristics	78
Cap II	2	Pathologies associated and common clinical signs in ADPKD and non-ADPKD patients	79
Cap II	3	Mean values of biochemical and hematological markers on hemodialysis ADPKD and non-ADPKD patients	80
Cap II	4	Modifiers in 3' region of <i>PKD1</i> gene in ADPKD patients	81

LISTA DE ABREVIATURAS

SIGLA	SIGNIFICADO
ADPKD	<i>Autosomal dominant polycystic kidney disease</i> (Doença renal policística autossômica dominante)
ARPKD	<i>Autosomal recessive polycystic kidney disease</i> (Doença renal policística autossômica recessiva)
EGFR	<i>Epidermal growth factor receptor</i> (Receptor do fator de crescimento epidermal)
HNF4	<i>Hepatocyte nuclear factor 4</i> (Fator nuclear 4 do hepatócito)
PC1	Policistina-1
PC2	Policistina-2
PC3	Policistina-3 (sua existência ainda é questionada)
PKD	<i>Polycystic kidney disease</i> (doença renal policística, designação genérica)
Pkd ^{+/-}	Linhagem mutante de camundongos com rins policísticos (+/- heterozigotos)
<i>PKD1</i>	Gene da policistina 1
<i>PKD1L1-3</i>	Genes homólogos (1-3) ao <i>PKD1</i> identificados em <i>Caenorhabditis elegans</i>
<i>PKD1Like</i>	Nome genérico dado aos genes homólogos ao <i>PKD1</i> identificados em outros organismos
<i>PKD2</i>	Gene da policistina 2
<i>PKD3</i>	Gene da policistina 3 (ainda não mapeado)
<i>PKDREJ</i>	Gene do receptor espermático (<i>Receptor for Egg-Jelly</i>) - gene homólogo ao <i>PKD1</i> identificado em <i>Echinodermata</i> (Ouriço-do-mar)
RNA _m	RNA mensageiro
Snx1	Variante específica da nexina envolvida na degradação lisossomal

CAPÍTULO

1

INTRODUÇÃO

Doença Renal Policística do Adulto

Doença renal policística do adulto

O rim é um dos órgãos mais comuns para ocorrências de cistos no organismo. De uma maneira geral, diversas condições patológicas podem ter relação com a formação de cistos e, embora a condição histológica seja a mesma, podem ocorrer variações quanto ao número, localização e aspectos clínicos associados (GLASSBERG, 1998; EVAN e McATEER, 1992).

De um modo geral, cistos renais são cavidades preenchidas por fluido e revestidas por uma camada única de células epiteliais. Variam de estruturas microscópicas a grandes formações e podem surgir em qualquer porção do túbulo renal. Os cistos podem ser únicos ou múltiplos e acometer os rins uni ou bilateralmente (LEE *et al.*, 2004). O desenvolvimento destas anormalidades estruturais em substituição ao parênquima renal normal frequentemente acarreta numa disfunção funcional do órgão (ONUCHIC, 1998). A figura 1 ilustra a formação de cistos a partir de células do epitélio tubular.

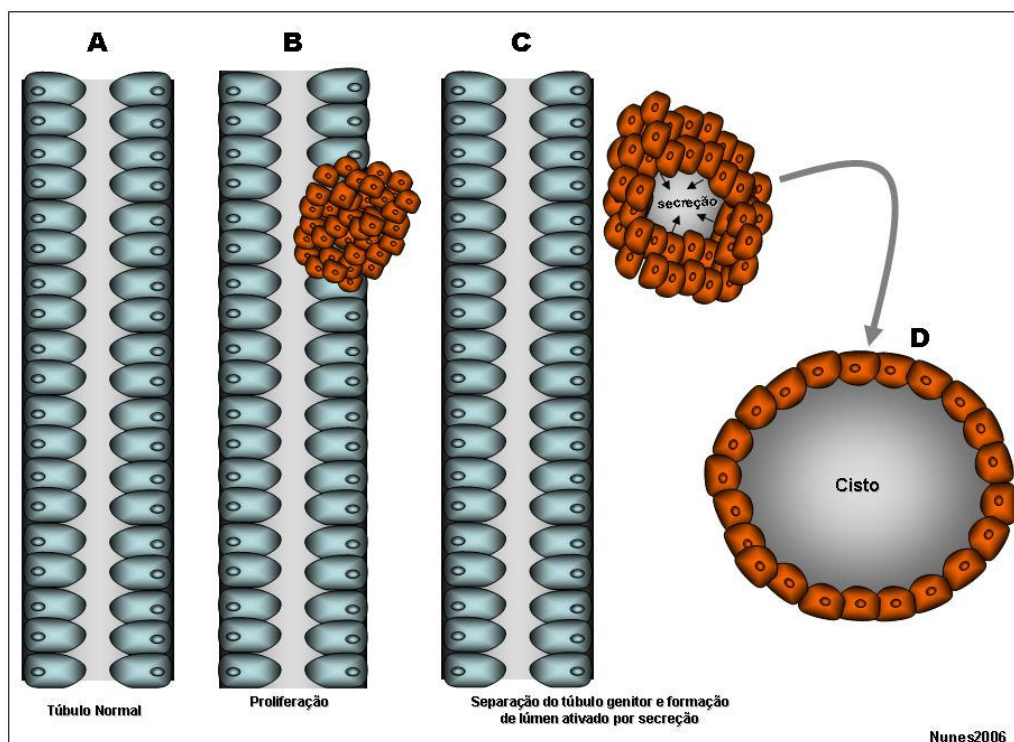


Figura 1: Formação do cisto renal através da proliferação celular. Num túbulo normal (A), uma célula mutante passa a proliferar de forma descontrolada (B). A massa celular se desprende do túbulo e passa a acumular fluido (C). Com a expansão da cavidade forma-se um cisto (D).

As doenças renais policísticas genéticas constituem um grupo de moléstias de grande impacto médico e socioeconômico.

A forma mais prevalente é a autossômica dominante. Grande parte dos estudos disponíveis apresenta dados referentes a essa variante da doença renal policística.

Aspectos Epidemiológicos

A doença renal policística do adulto (ADPKD – *autosomal polycystic kidney disease*) é uma das doenças humanas hereditárias mais prevalentes e certamente é a patologia renal monogênica mais comum (ONUCHIC, 1998).

ADPKD tem uma distribuição universal. Em termos epidemiológicos, a maioria dos dados existentes refere-se a pacientes norte-americanos e europeus, sobretudo pacientes caucasianos. Vários dados já foram descritos em relação à prevalência dos rins policísticos ao longo das últimas décadas, com valores desde 1:400 (IGLESIAS *et al.*, 1983) até 1:1000 (GABOW, 1993) entre os pacientes norte-americanos. Contudo, são escassos os dados sobre afro-descendentes norte-americanos, populações africanas ou asiáticas, bem como populações latino-americanas (GUAY-WOODFORD, 1999a). Alguns estudos da doença renal policística são citados na tabela “1”. De um modo geral, há uma carência de dados relativos à populações africanas ou afro-descendentes.

A doença é responsável, ainda, por cerca de 3000 hospitalizações por ano nos Estados Unidos e aproximadamente a metade dos indivíduos acometidos desenvolve insuficiência renal em estágio terminal até os 60 anos de idade, perfazendo de 8-10% da população norte-americana em diálise crônica (GABOW, 1993).

Entre 9 e 10% dos pacientes submetidos à hemodiálise na Europa apresentam rins policísticos (GLASSBERG, 1998; DALGAARD e SØREN, 1989).

Interessante observar a ocorrência de uma menor prevalência na Ásia onde somente 2,5% a 3,2% de pacientes em tratamento dialítico possuem o diagnóstico de rins policísticos (HIGASHIRA *et al.*, 1998; HOUNG *et al.*, 2000).

No Brasil, estima-se a existência de aproximadamente 60.000 pacientes em tratamento para insuficiência renal crônica terminal. São Paulo é o Estado da Federação que contribui para o tratamento do maior percentual destes pacientes. De acordo com levantamento feito em 1991 na Grande São Paulo, num total de 2905 pacientes analisados, 87 (3%), tinham rins policísticos (SESSO *et al.*, 1994).

Em Porto Alegre, foram avaliados 975 pacientes em tratamento hemodialítico entre os anos de 1999 e 2002. Desses, 74 pacientes, correspondendo a 7,6% da amostra, apresentaram o diagnóstico de rins policísticos como causa da insuficiência renal terminal (NUNES *et al.*, 2003).

Tabela 1: A doença renal policística em diferentes grupos étnicos.

Referência	Ano	Etnia	População
Iglesias <i>et al.</i>	1983	Caucasiana	Americana
Kaariainen <i>et al.</i>	1987	Caucasiana	Finlandesa
Gabow	1993	Caucasiana	Americana
Sesso <i>et al.</i>	1994	Euro-descendentes	Brasileira
Higashira <i>et al.</i>	1998	Asiática	Japonesa
Houng <i>et al.</i>	2000	Asiática	Chinesa
Nunes <i>et al.</i>	2003	Euro-descendentes	Brasileira
Peltola <i>et al.</i>	2005	Caucasiana	Finlandesa

Dados recentemente publicados pelo órgão público de saúde norteamericano (*National Institutes of Health*) revelam que a incidência de rins policísticos se mantém relativamente estabilizada naquela população. No início dos anos 90, a incidência (calculada para cada hum milhão de indivíduos da população, ajustada de acordo com as características demográficas e considerada apenas para pacientes com diagnóstico primário da uremia compatível com doença renal policística) oscilava entre 7,4 (1992) e 7,7 (1995). A maior incidência foi atingida nos anos de 1998 e 1999 (8,0) e atualmente o valor está calculado em 7,6 (dados até 2003). A avaliação seqüencial dos dados de 1993 a 2003 mostrou que o percentual de pacientes com rins policísticos e insuficiência renal crônica terminal é de 6,1% entre os caucasóides, 1,6% entre os negróides, 1,5% entre os americanos nativos (incluindo nativos do Alasca) e 2,5% entre os descendentes asiáticos (U.S. Renal Data System, 2005).

Aspectos Clínicos

Do ponto de vista clínico, a evolução dos pacientes com rins policísticos é bastante variável (GAL *et al.*, 1989; RAVINE *et al.*, 1992; SESSA *et al.*, 1997; LEE *et al.*, 2004; PATERSON *et al.*, 2005). O cuidado do paciente com rins policístico é um processo que ainda está em amplo estudo e conseqüente discussão.

Essa doença é clinicamente detectável primeiramente nos rins (100%), mas pode ocorrer também no fígado (57%), pâncreas (10%) e ter, ainda, alguns focos em tecidos epiteliais (MILUTNOVIC *et al.*, 1990; ORELLANA *et al.*, 1995a).

Algumas complicações clínicas e comorbidades são descritas nos pacientes com rins policísticos em diferentes etnias: hematúria, proteinúria, hipertensão, diverticulose, infecções urinárias, litíase renal e neoplasia. Também já foram descritos aneurismas nas artérias cerebrais (5%), bem como anormalidades vasculares e/ou cardíacas (26%), sugerindo a ocorrência de mutações associadas com esses eventos (DALGAARD e SØREN, 1989; MILUTINOVIC *et al.*, 1990; SESSO *et al.*, 1994; GRANTHAM, 1997; HIGASHIRA *et al.*, 1998; SHARP *et al.*, 1998; HJELLE *et al.*, 2000). A figura 2 mostra algumas relações entre os sinais e sintomas, bem como comorbidades que podem estar associadas com ADPKD.

Até o presente momento não existem testes laboratoriais específicos ou achados clínicos para o diagnóstico direto da doença renal policística, especialmente em sujeitos assintomáticos até a meia idade. A ultrassonografia, como exame de imagem, tem sido utilizada preferencialmente pelo fato de não necessitar agentes de contraste nem envolver radiação, aliado à facilidade e segurança. A tomografia computadorizada e imagens por ressonância magnética do abdômen também são técnicas rotineiramente empregadas para a detecção dos cistos renais (GABOW e GRANTHAM, 1997).

A figura 3 mostra algumas imagens usadas na investigação da doença renal policística em adultos.

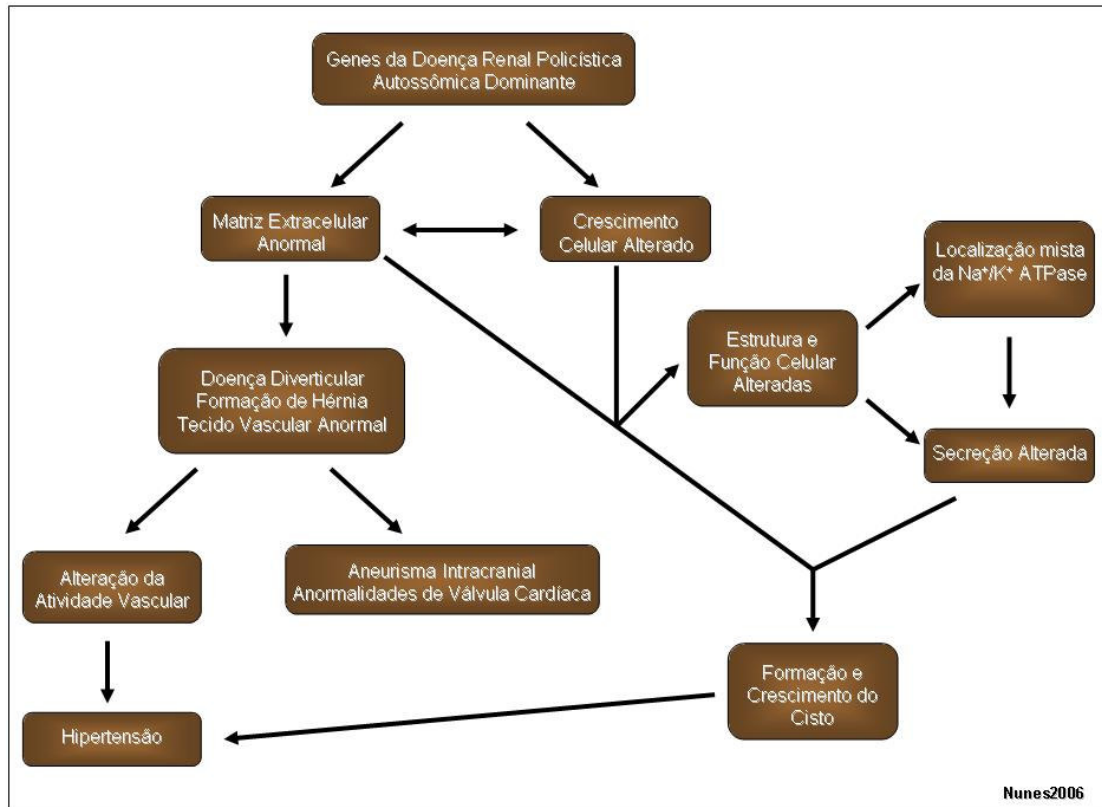


Figura 2: Representação esquemática dos mecanismos envolvidos na etiopatogenia dos rins policísticos.

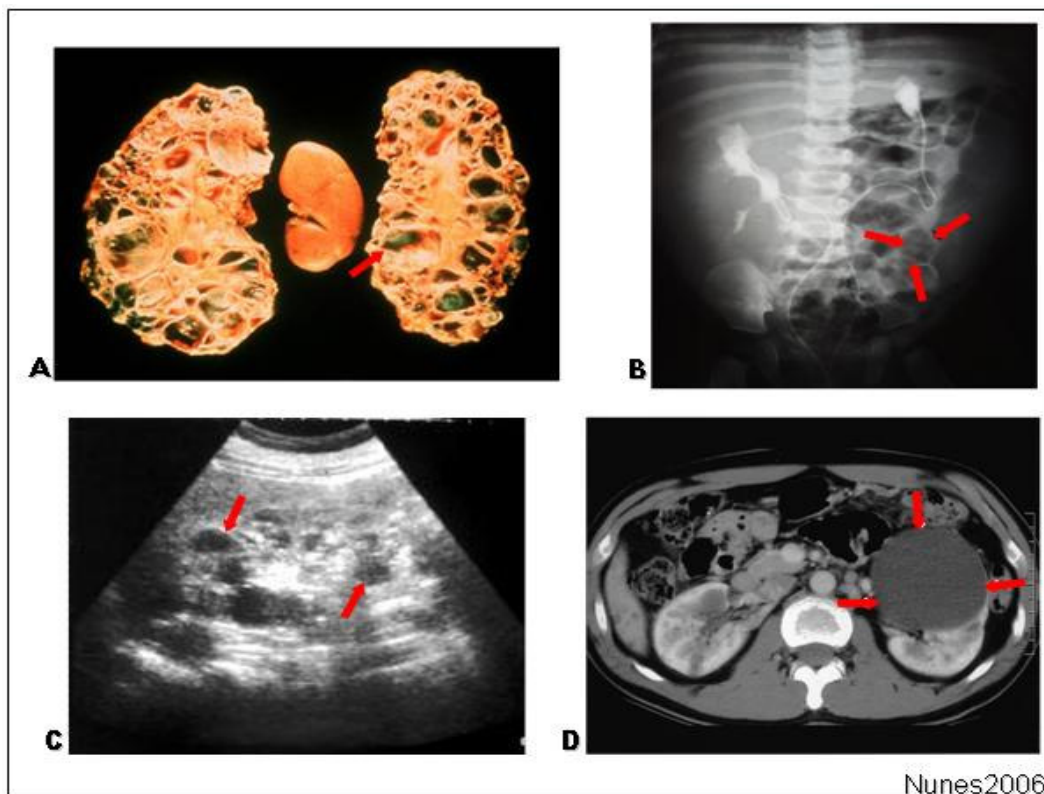


Figura 3: Diferentes formas de visualização de rins policísticos: o exame anatomopatológico onde há um rim adulto de tamanho normal ao centro para comparação (A), o exame de Raio-X

(B), a imagem por ultrassonografia (C) e a imagem axial por tomografia computadorizada (D). As setas vermelhas indicam os limites císticos.

Outras possibilidades incluem análises de ligação genética de famílias que apresentam históricos da doença e inúmeros trabalhos procuram utilizar marcadores moleculares como ferramentas no diagnóstico precoce da ADPKD (GABOW e GRANTHAM, 1997; COTTON e AVNER, 1998; VERLINSKY *et al.*, 2004).

Estudos em modelos animais apontam novas técnicas de tratamento, incluindo terapia gênica (OSADA *et al.*, 1999; PRITCHARD *et al.*, 2000). Outras opções terapêuticas incluem alterações dietéticas como a utilização de proteínas vegetais que parecem modificar o quadro clínico desses pacientes, sendo que há uma influência exercida tanto pelo sexo quanto pelo nível de proteína ingerida (AUKEMA *et al.*, 1999). Outro estudo experimental descreve a adição de ácido cítrico e citrato de potássio na dieta de ratos urêmicos. Essa mistura, em doses específicas, reduziu a concentração plasmática de potássio, o que melhorou a função renal (TANNER, 1998).

Em um estudo recente, o uso de 'rapamicina' em modelos animais indicou retardo na progressão da doença, mas essa estratégia terapêutica ainda não foi testada em humanos (TAO *et al.*, 2005a).

Algumas abordagens de tratamento mais recentes estão vinculadas à terapia gênica ou tratamentos farmacogenômicos, principalmente no que diz respeito ao tratamento das principais comorbidades associadas à doença renal policística, como anemia (OSADA *et al.*, 1999) e a hipertensão (ARANDA *et al.*, 2000).

Contudo, o tratamento mais adotado, ainda, é a terapia renal substitutiva para os pacientes com insuficiência renal avançada em fase terminal, ou ainda o transplante renal (ROZANSKI *et al.*, 2005) que recentemente teve a adição da laparoscopia como ferramenta auxiliar (SULIKOWSKI *et al.*, 2006). A adoção de técnicas de aconselhamento genético em famílias afetadas também pode ser uma opção de identificação para o tratamento precoce dos sintomas associados. Entretanto, essas técnicas apresentam algumas limitações práticas, que são seguidamente encontradas não apenas nos estudos da doença renal policística, mas também em outras doenças monogênicas ou multifatoriais (JONES, 1998; GULCHER *et al.*, 2001).

As terapias propostas se baseiam em protocolos para neoplasias a partir dos estudos com modelos animais. Até o momento se busca a associação de uma mutação genotípica e os processos celulares ocorridos a um quadro clínico e, conseqüentemente, a novos tratamentos com agentes específicos. Trabalhos experimentais sustentam essa hipótese também durante a progressão da doença.

Aspectos Genéticos

O padrão de herança dos rins policísticos foi descrito pela primeira vez em um estudo feito em Copenhagen (DALGAARD, 1957), onde foram avaliados 284 pacientes e seus familiares (DALGAARD e SØREN, 1989).

Cerca de 60% dos pacientes com rins policísticos tem história familiar positiva para essa doença. Contudo, os mais variados gradientes de herdabilidade dos rins policísticos já foram descritos (GABOW, 1990; FOSSDAL *et al.*, 1993; NEOPHYTOU *et al.*, 1996; GUAY-WOODFORD, 1999b; HATEBOER *et al.*, 1999, PEI *et al.*, 2001).

As formas autossômicas dominantes incluem a doença renal policística autossômica dominante (ADPKD – *autosomal dominant polycystic kidney disease*), o complexo esclerose tuberosa (TSC – *tuberous sclerosis complex*), a doença de von Hippel-Lindau (VHL) e uma forma de doença cística medular (LONGA *et al.*, 1997; CAI *et al.*, 2003). A principal patologia autossômica recessiva, por sua vez, é a doença renal policística autossômica recessiva (ARPKD – *autosomal recessive polycystic kidney disease*).

ADPKD é causada principalmente por mutações em genes específicos dos cromossomos 16 (*PKD1*) e 4 (*PKD2*), que codificam as policistinas 1 e 2, proteínas que participam de processos celulares básicos como proliferação, diferenciação e transporte de moléculas. Diversas mutações (inserções, *missense* e *frameshift*) têm sido identificadas nesses genes com aparente redução no potencial funcional de tais proteínas, causando o surgimento de diversos sintomas clínicos associados à doença renal policística (GABOW, 1990; GRANTHAM, 1996; TORRA *et al.*, 1997, HATEBOER *et al.*, 2000).

Alguns estudos também relatam possíveis associações com outras moléculas que influenciam na expressão gênica das policistinas, o que determinaria o perfil diferenciado de progressão dessa doença nos pacientes (PERSU *et al.*, 2000).

Na última década diversos estudos moleculares têm mostrado a variabilidade polimórfica dos diferentes genes envolvidos com a doença renal policística (PERAL *et al.*, 1996a e 1997; ROELFSEMA *et al.*, 1997; VELDHUISEN *et al.*, 1997; PEI *et al.*, 1998a e 1998b; BADENAS *et al.*, 1999; TORRA *et al.*, 1997 e 1999). Alguns estudos analisam a dinâmica populacional desses polimorfismos moleculares e de variantes genéticas possivelmente associadas a eles (VIRIBAY *et al.*, 1994 e 1995; COTO *et al.*, 1995; KIM *et al.*, 2000; THONGNOPPAKHUN *et al.*, 2004; VOUK *et al.*, 2006).

Alguns casos de recém-nascidos de famílias com ADPKD que apresentam os sintomas são exemplos da variabilidade de expressão clínica dessa doença (BLYTH e OCKENDEN, 1971; KAARIANEN, 1987; FICK *et al.*, 1993; ZERRES *et al.*, 1993; MAGISTRONI *et al.*, 2003). Fick e colaboradores sustentam a idéia de que essas famílias são exemplos de “antecipação” e propõe que uma instabilidade de repetições de triglicerídeos pode ser responsável por esses casos (FICK *et al.*, 1994).

Em outro estudo, Peral e colaboradores descreveram uma família onde gêmeos univitelinos com a mesma mutação germinativa *nonsense* no gene *PKD1* apresentavam diferentes fenótipos. Uma das crianças desenvolveu a doença na infância de forma severa enquanto a outra não apresentava cistos aos 5 anos de idade, quando foram investigadas. Os autores sugerem que essa diferença na apresentação clínica pode estar associada ao efeito de um número pequeno de fatores de modificação genética (PERAL *et al.*, 1996b).

Provavelmente o padrão genético não pode explicar sozinho todos os aspectos da variabilidade fenotípica dos rins policísticos em humanos, mas as modificações moleculares e citogenéticas dos genes envolvidos na PKD têm orientado o entendimento dos mecanismos envolvidos (QIAN *et al.*, 1996; FUCHSHUBER *et al.*, 1998; GOGUSEV *et al.*, 2003; PATEL *et al.*, 2004; FAIN *et al.*, 2005).

A História das Descobertas Moleculares

A busca pelo locus gênico responsável pela doença renal policística se intensificou na década de 80, quando diversas técnicas de biologia molecular passaram a ser aplicadas na investigação da etiopatogenia dos rins policísticos.

Os estudos de ligação genética são determinantes nesse aspecto. A ligação genética ocorre quando dois genes se localizam próximos entre si de tal maneira que tendem a segregar juntos. Isso significa que durante o pareamento dos cromossomos homólogos, na prófase II da meiose, a chance de que ocorra recombinação (*crossing over*) entre eles é muito baixa. Desse modo, a frequência da recombinação entre dois genes pode ser usada para medir a distância genética entre eles.

Reeders e colaboradores contribuíram com dois trabalhos importantes, nos quais a doença renal policística se mostrou ligada a dois marcadores localizados no braço curto do cromossomo 16: o complexo da alfa hemoglobina (REEDERS *et al.*, 1985) e o gene da fosfoglicerato quinase (REEDERS *et al.*, 1986). A ligação com o complexo da alfa hemoglobina está estimada numa taxa de recombinação de 5%, com intervalo de confiança superior e inferior de 3,5% e 7,5%, respectivamente. Para a relação do gene da fosfoglicerato quinase e a doença renal policística esse valor não foi determinado. Contudo, diversos polimorfismos de DNA indicam que a probabilidade de ligação entre esses dois genes é superior a 95%.

Entretanto, nem todos os casos de rins policísticos podiam ser explicados quando se fazia a análise através de estudos de ligação nesse locus gênico. Buscando elucidar a compreensão da doença renal policística, um estudo feito com 163 membros de uma mesma família norte-americana, cujos ancestrais tinham emigrado da Sicília, onde 71 indivíduos eram portadores de rins policísticos, sugeriu que havia um segundo gene responsável pela doença; os diagnósticos foram confirmados pelo exame ultrassonográfico e nessa família a frequência de recombinação entre o complexo da alfa hemoglobina excedia 4%, indicando que a mutação responsável pela doença, nessa família, estava em outro locus. Todavia, o

perfil clínico dessa família era indistinguível de outras igualmente diagnosticadas com doença renal policística (KIMBERLING *et al.*, 1988). Dados semelhantes foram observados por Romeo e colaboradores (ROMEO *et al.*, 1988).

A sugestão da existência de um segundo gene envolvido na doença renal policística estimulou diversos trabalhos, porém nem todos concordavam com essa nova hipótese (BACHNER *et al.*, 1990).

Em 1990 Elles e colaboradores publicaram em estudo feito com 24 famílias onde, de acordo com os testes moleculares usados, não foram encontradas evidências para a existência de um segundo gene. Contudo, chamaram a atenção para o fato de que os trabalhos que propunham essa hipótese foram elaborados com famílias de origem italiana, o que sugeria apenas uma variação étnica (ELLES *et al.*, 1990).

Tal como a história da biologia molecular, o estudo dos rins policísticos teve grandes saltos nos últimos vinte anos.

Em 1985, através das técnicas de ligação genética, foi localizado um gene no braço curto do cromossomo 16 associado à doença renal policística em 90% ou mais das famílias com esse diagnóstico (REEDERS, 1985). Contudo, esse gene sozinho não explicava todos os casos da doença, sugerindo a existência de um segundo gene ou de múltiplos genes.

A existência desse segundo gene foi comprovada no início dos anos 90 (KIMBERLING *et al.*, 1993 e PETERS *et al.*, 1993) e as denominações *PKD1* e *PKD2* passaram a ser usadas para identificar os genes associados à etiopatogenia dos rins policísticos (GABOW, 1993). A figura 4 mostra a localização dos genes relacionados com a ADPKD.

Como a grande maioria dos casos correspondia ao gene localizado no cromossomo 16 (*PKD1*), muitos estudos passaram a se voltar no diagnóstico precoce dessa variante comum da doença renal policística do adulto. Além disso, parece ser a forma mais severa da doença renal policística, com baixa média de sobrevida e alto risco de progressão para a doença renal crônica terminal (RAVINE *et al.*, 1992).

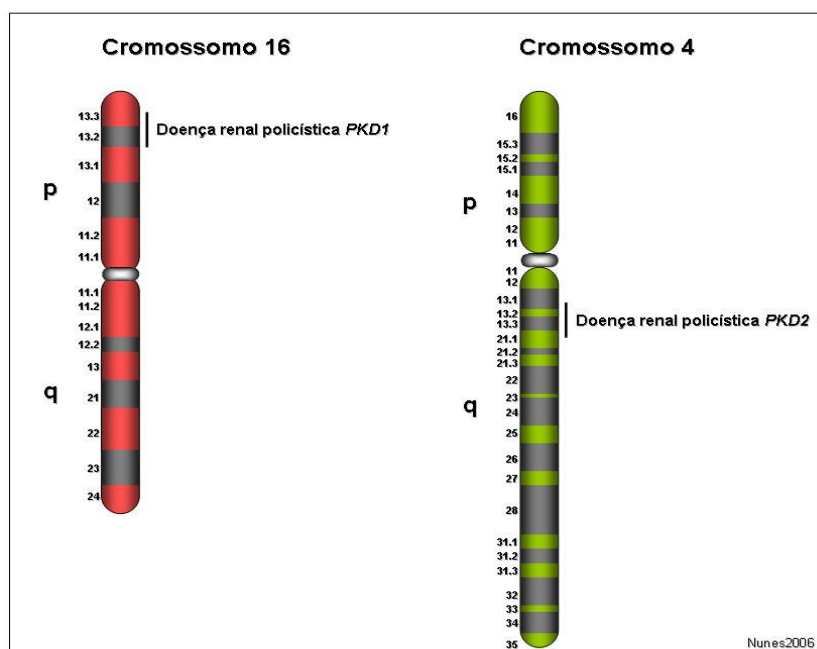


Figura 4: Ideogramas dos cromossomos 16 e 4, com respectivas regiões dos genes *PKD1* e *PKD2*.

O uso de polimorfismos de DNA como marcador molecular passou a ser indicado tanto para pacientes assintomáticos quanto para o exame pré-natal em famílias com história clínica que justificasse tal investigação.

Com essa abordagem 92% dos indivíduos não relacionados podem ser considerados informativos para marcadores tipo polimorfismos de DNA, quando usados primers que flanqueassem o gene *PKD1*. Em indivíduos não-recombinantes (90% dos membros de uma mesma família), a acurácia do diagnóstico usando marcadores de DNA é superior a 99% (BREUNING *et al.*, 1990^a e 1990b). Atualmente diversos polimorfismos de DNA estão padronizados e podem ser usados como rotina no diagnóstico dos rins policísticos (HARRIS *et al.*, 1991; JEFFERY e MORGAN, 1993; SNAREY *et al.*, 1994; WANG *et al.*, 1995; PERAL *et al.*, 1996-1997; ROELFSEMA *et al.*, 1997; VELDHUISEN *et al.*, 1997; PEI *et al.*, 1998a-1998b; DANIELLS *et al.*, 1998; BADENAS *et al.*, 1999; KIM *et al.*, 1999; TORRA *et al.*, 1999; COTO *et al.*, 1995; KIM *et al.*, 2000; KOBAYASHI *et al.*, 2004).

O gene *PKD1* e a Policistina-1

A variante mais comum da doença renal é causada por alterações no gene *PKD1*, totalizando entre 85% e 95% de todos os casos descritos até o momento (QIAN *et al.*, 1996). O gene foi mapeado no braço curto do cromossomo 16 (16p 13.3) por Reeders e colaboradores em 1985 (REEDERS *et al.*, 1995).

Diversas hipóteses têm sido lançadas para explicar as bases moleculares da formação focal dos cistos na doença renal policística tipo 1 em humanos. Algumas mutações de ponto únicas no gene *PKD1* podem explicar a variação interfamiliar, mas isso não explica como indivíduos que apresentam uma mutação presumivelmente comum têm diferentes apresentações clínicas (QIAN *et al.*, 1996; ROSSETTI *et al.*, 2002a 2002b e 2003).

O gene *PKD1* é um grande gene composto por 46 éxons que correspondem a 53 Kb do DNA genômico e apresenta um mecanismo complexo de reparo (BACOLLA *et al.*, 2001). Esse gene produz um RNA mensageiro de 14,5 Kb e codifica um polipeptídeo de 4.304 aminoácidos, a policistina-1 (MURCIA *et al.*, 1998). A figura 5 representa esquematicamente a constituição molecular do gene *PKD1*.

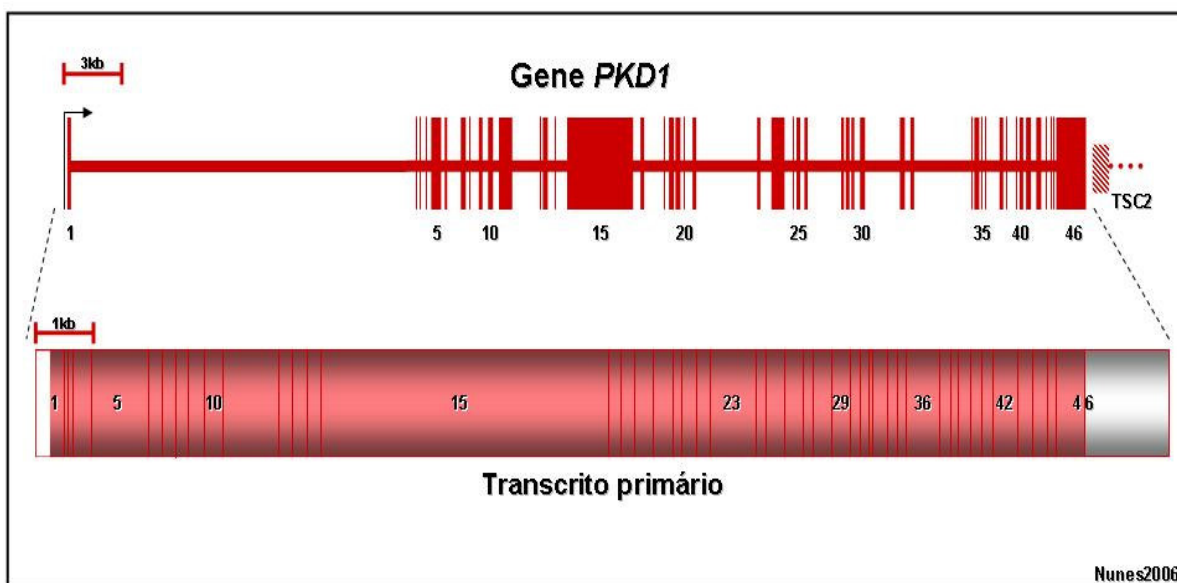


Figura 5: Representação esquemática do gene *PKD1*.

A policistina-1 possui um grande domínio extracelular, regiões de espaçamento transmembrana e uma terminação carboxi intracelular (GENG *et al.*, 1996; MALHAS *et al.*, 2001; NIMS *et al.*, 2003). O domínio extracelular apresenta 16 cópias de uma repetição de 80 aminoácidos semelhantes à imunoglobulina, o domínio PKD. Embora a função do domínio PKD seja desconhecida, domínios PKD em diversas outras proteínas estão localizados na superfície extracelular e são altamente glicosilados. O domínio aminoterminal da Policistina-1 também contém repetições ricas em leucina, um domínio LDL-A, um domínio REJ e um domínio lectina Ca^{2+} dependente (GILLESPIE *et al.*, 1991). A presença do domínio REJ é particularmente importante, porque esse domínio parece ter um papel regulatório na molécula (MOY *et al.*, 1996). A policistina-1 está ancorada por cerca de 7 a 11 domínios transmembrana. Já a porção carboxi terminal da policistina-1 contém diversos sítios de fosforilação (PARNELL e CALVET, 1997; PARNELL *et al.*, 1998) e um domínio com capacidade de fazer ligações helicoidais, conhecido como “coiled-coil”, que demonstrou, *in vitro*, interagir com a porção carboxi terminal do produto protéico do gene *PKD2*, a policistina-2 (QIAN *et al.*, 1997; TSIOKAS *et al.*, 1997). Essa composição está representada na figura 6.

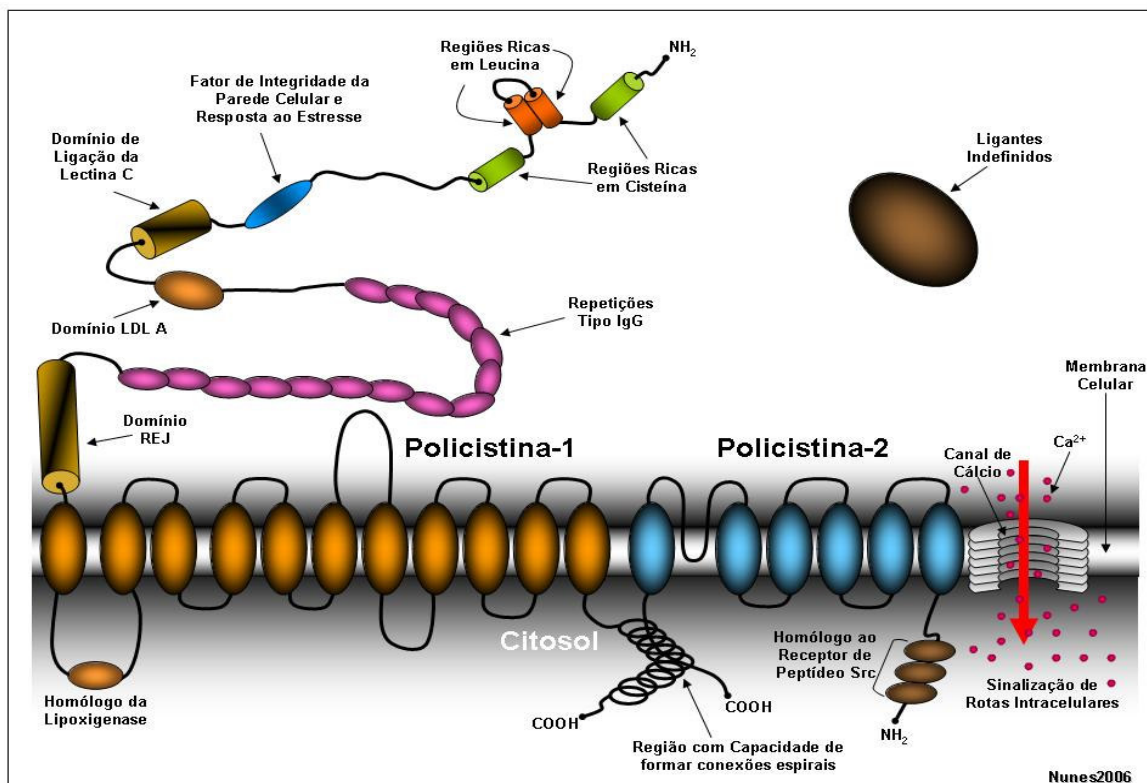


Figura 6: Representação esquemática da composição proteica, localização e interação entre a policistina-1 e policistina-2 na membrana celular.

Esses numerosos componentes sugerem que a policistina-1 é uma molécula grande e multifuncional, envolvida em motivos de reconhecimento de carboidratos, na adesão de moléculas ligantes e na regulação do Ca^{2+} . Parece também que essa proteína está envolvida nas interações célula-célula e/ou célula-matriz, onde parece regular um sinal de transdução de rotas mediado por interações protéicas na superfície citoplasmática da membrana celular de diversos tipos de tecidos (MULLER *et al.*, 1999; PETERS *et al.*, 1999; BOULTER *et al.*, 2001; QIAN *et al.*, 2003).

Mutações germinativas no gene PKD1 são identificadas em diversas genealogias da ADPKD (PERAL *et al.*, 1995,1996a, 1996b, 1997; CONSTANTINIDES *et al.*, 1997; TURCO *et al.*, 1995; WATINICK *et al.*, 1997; KOPTIDES *et al.*, 1998; BLASZAK *et al.*, 1999; PHAKDEEKITCHAROE *et al.*, 2001; BERGMANN *et al.*, 2003; ARIYUREK *et al.*, 2004).

Indivíduos que herdaram alguma mutação germinativa possuem apresentação variável na severidade da doença e na idade de início dos sintomas.

Algumas evidências demonstram que ADPKD tipo 1 é uma doença fenotipicamente dominante que apresenta um padrão recessivo no âmbito celular. Nesse caso, a mutação herdada predispõe um indivíduo a desenvolver a doença pela inativação ou remoção imediata do primeiro alelo *PKD1* renal (QIAN *et al.*, 1996).

Este evento na linhagem germinativa fornece um primeiro alvo limitado no locus. A análise de células epiteliais de cistos individuais revelou a existência aleatória de um segundo alvo independente que ocorre em balanço com o alelo normal *PKD1* nas células individuais do epitélio renal (QIAN *et al.*, 1996; BRASIER *et al.*, 1997).

Esse segundo alvo que seria o causador da perda de função do gene *PKD1* nas células individualmente, iniciando as lesões policísticas por todo rim. A figura 7 representa o provável mecanismo da expansão cística.

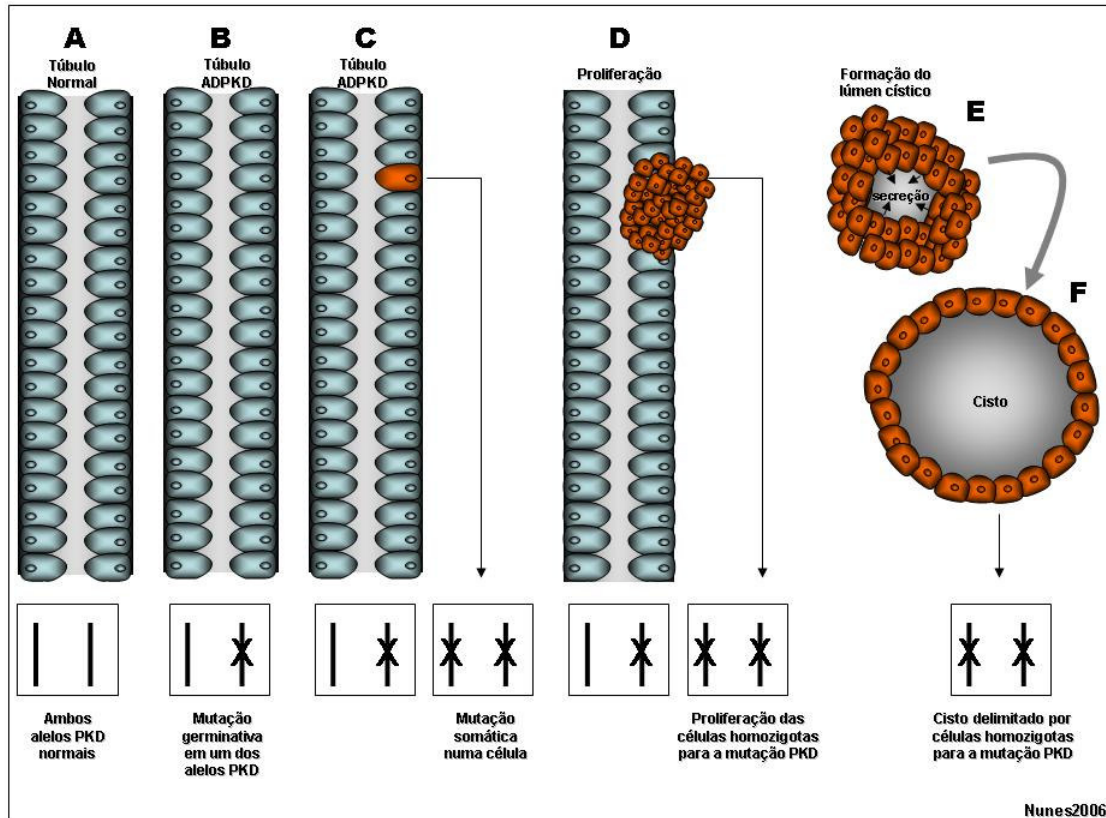


Figura 7: Representação esquemática do mecanismo de inativação alélica em *PKD1* ou *PKD2*. Hipóteses de um segundo alvo de mutação somática em células heterocigotas para uma mutação germinativa de predisposição. Possível mecanismo que explica a grande variabilidade fenotípica interfamiliar e intrafamiliar dos rins policísticos, a partir do comportamento monoclonal dos cistos renais.

O gene *PKD2* e a Policistina-2

O tipo 2 da doença renal policística é caracterizado como uma variante menos comum de rins policísticos e está associado a um gene localizado no braço longo do cromossomo 4 (4q 13-3) e foi mapeada de forma independente por dois grupos de pesquisa há pouco mais de dez anos (KIMBERLING *et al.*, 1993 e PETERS *et al.*, 1993).

O gene *PKD2* expressa um RNA mensageiro de 5,4 Kb que codifica um polipéptido de 968 aminoácidos, a policistina-2. A figura 8 mostra de forma esquemática a estrutura do gene *PKD2*.

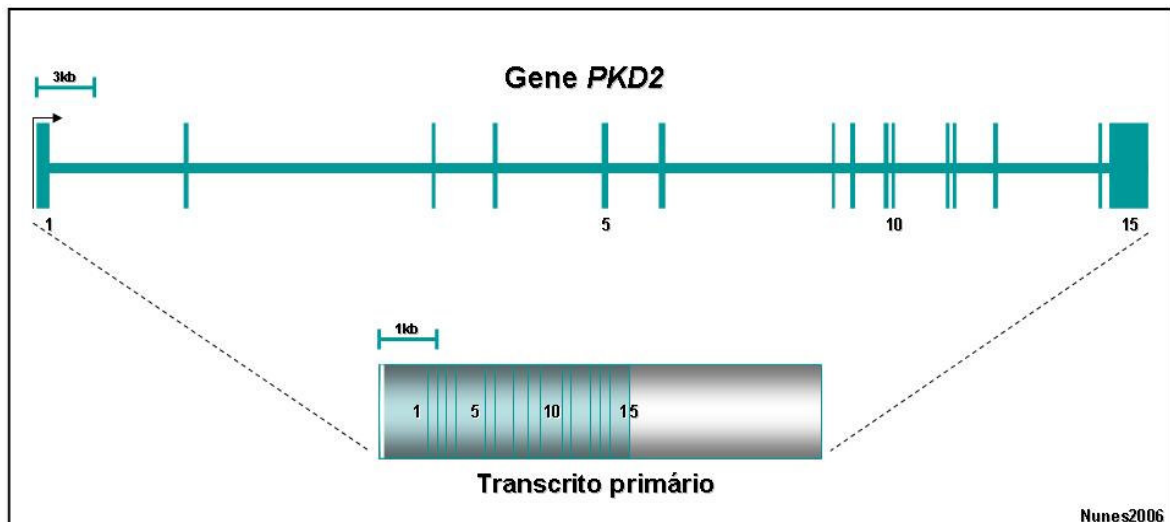


Figura 8: Representação esquemática do gene *PKD2*.

A policistina-2 contém 6 regiões transmembrana e tem tanto um domínio intracelular com porção carboxi terminal quanto um domínio intracelular com porção amino terminal e se expressa em diversos tecidos (FOGGENSTEINER *et al.*, 2000).

As regiões transmembrana apresentam homologia significativa com canais de voltagem $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{2+}$ ativados, sugerindo que a própria policistina-2 possa ser uma proteína de canal (ARNOULD *et al.*, 1999).

A porção carboxi terminal contém um domínio “EF hand” que foi descrito como ligante de Ca^{2+} , o que reforça a hipótese de que a policistina-2 possui funções de canal de Ca^{2+} (GONZALEZ-PERRETT *et al.*, 2001). A porção carboxi terminal também possui sítios potenciais de fosforilação. A figura 9 ilustra essa hipótese.

Como mencionado anteriormente, o domínio carboxi terminal da policistina-2 é capaz de formar ligações helicoidais com a porção carboxi terminal da policistina-1, *in vitro* (QIAN *et al.*, 1997; TSIOKAS *et al.*, 1997). Essa interação sugere que a policistina-2 existe como um homodímero e como um complexo heterodimérico com a policistina-1. A interação entre as policistinas 1 e 2 sustenta as evidências moleculares de que há uma rota comum para o desenvolvimento da doença renal policística, onde *PKD1* e *PKD2* atuam mutuamente.

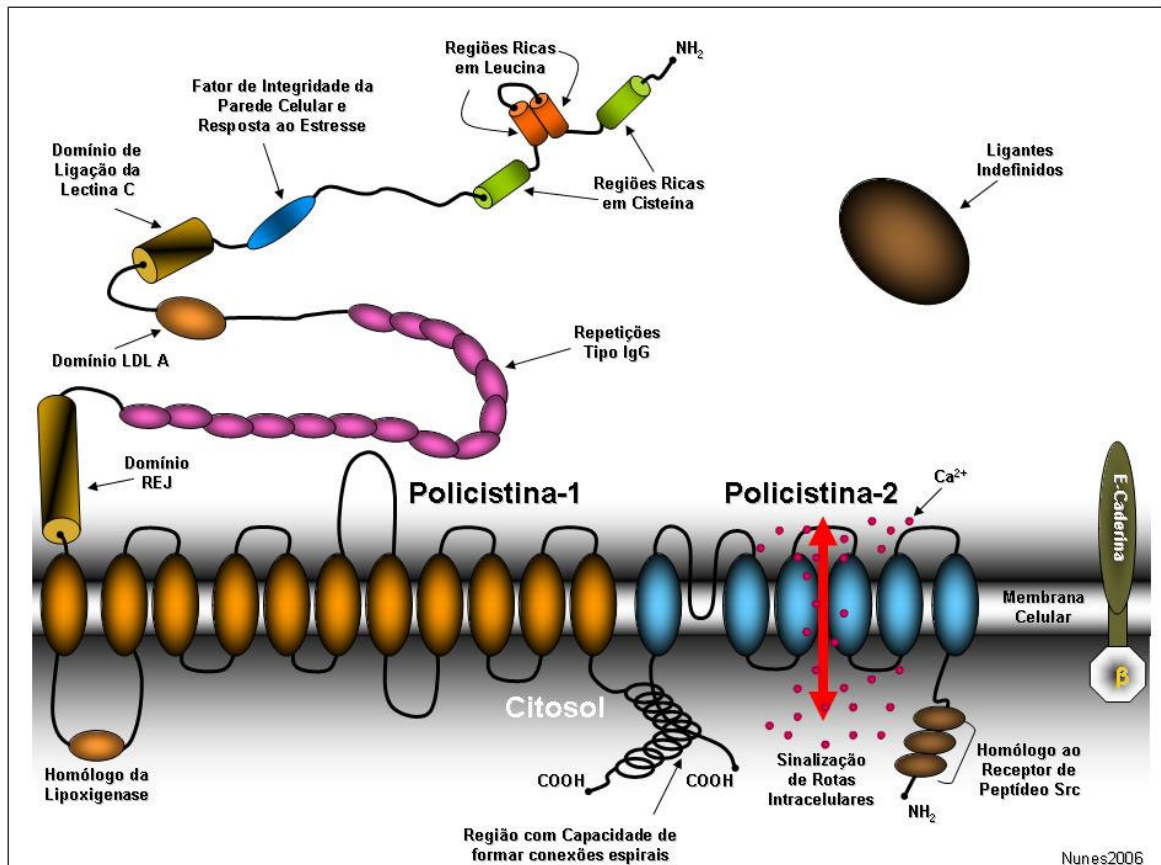


Figura 9: Modificação na interpretação do mecanismo de atuação da polycistina-2 como canal de Ca^{2+} não seletivo

Ao que tudo indica, a inativação somática do gene *PKD2* resulta na doença renal policística. Num estudo feito por Wu e colaboradores, um exon 1 mutante foi introduzido no locus *PKD2* de camundongos tipo selvagem. Esse alelo mutante instável que leva à inativação somática, através da recombinação entre os homólogos intragênicos. Camundongos heterozigotos e homozigotos para essa mutação, tal como camundongos $Pkd^{+/-}$, desenvolveram rins policísticos e lesões no fígado, indistinguíveis do fenótipo humano. De qualquer modo, cistos renais surgem das células do túbulo renal que perdem a capacidade de produzir a proteína polycistina-2.

A perda somática da expressão da polycistina-2 é, ao mesmo tempo, necessária e suficiente para formação do cisto renal na ADPKD, sugerindo que o gene *PKD2* possui um mecanismo de controle celular recessivo (WU *et al.*, 1998). Outros estudos sugerem que essa inativação pode ocorrer tanto no gene *PKD1* quanto no gene *PKD2* (DELMAS *et al.*, 2004; AL-BHALAL e AKHTAR, 2005; ONG, 1999; ONG *et al.*, 1999; ONG e HARRIS, 2005).

Os mecanismos exatos da inativação somática dos genes *PKD1* e *PKD2* ainda são desconhecidos, mas parece ser uma explicação viável para a grande variabilidade fenotípica encontrada nessa doença, o que será discutido adiante nos mecanismos de controle da cistogênese (IGLESIAS *et al.*, 2000).

Outra evidência da proximidade entre os genes *PKD1* e *PKD2* são os estudos de localização subcelular. A policistina-1 ocorre predominantemente nos túbulos distal e proximal, principalmente na membrana basolateral, indicando uma função no mecanismo adesão célula-célula e nos contatos célula-matriz, que pode ser alterada devido à doença cística (RUSSO *et al.*, 2005). A policistina-2, além da membrana celular, onde ocorre sempre próxima à policistina-1, também pode ser observada no retículo endoplasmático, sugerindo um papel na regulação do metabolismo celular (AL-BHALAL e AKHTAR, 2005).

Além disso, o gene *PKD1* contém um domínio PEST e pode ser inativado por degradação rápida (TSIOKAS *et al.*, 1997). A ligação do gene *PKD2* ao gene *PKD1* pode proteger o gene *PKD1* dessa deterioração bloqueando o acesso ao domínio PEST (TSIOKAS *et al.*, 1997). Mutações nos genes *PKD1* ou *PKD2* que provoquem a ruptura dessa interação podem ocasionar na degradação rápida do gene *PKD1* (WATNICK *et al.*, 1997). Esse é um mecanismo que pode explicar o fenótipo similar da doença sendo causado por esses dois genes mutantes (MURCIA *et al.*, 1998 e 1999). Uma forma de provocar essa instabilidade é através de um erro de 'splicing', ou seja, rearranjo desordenado do gene durante seu processamento (REYNOLDS *et al.*, 1999).

A figura 10 exhibe a distribuição das policistinas em diferentes pontos da membrana celular.

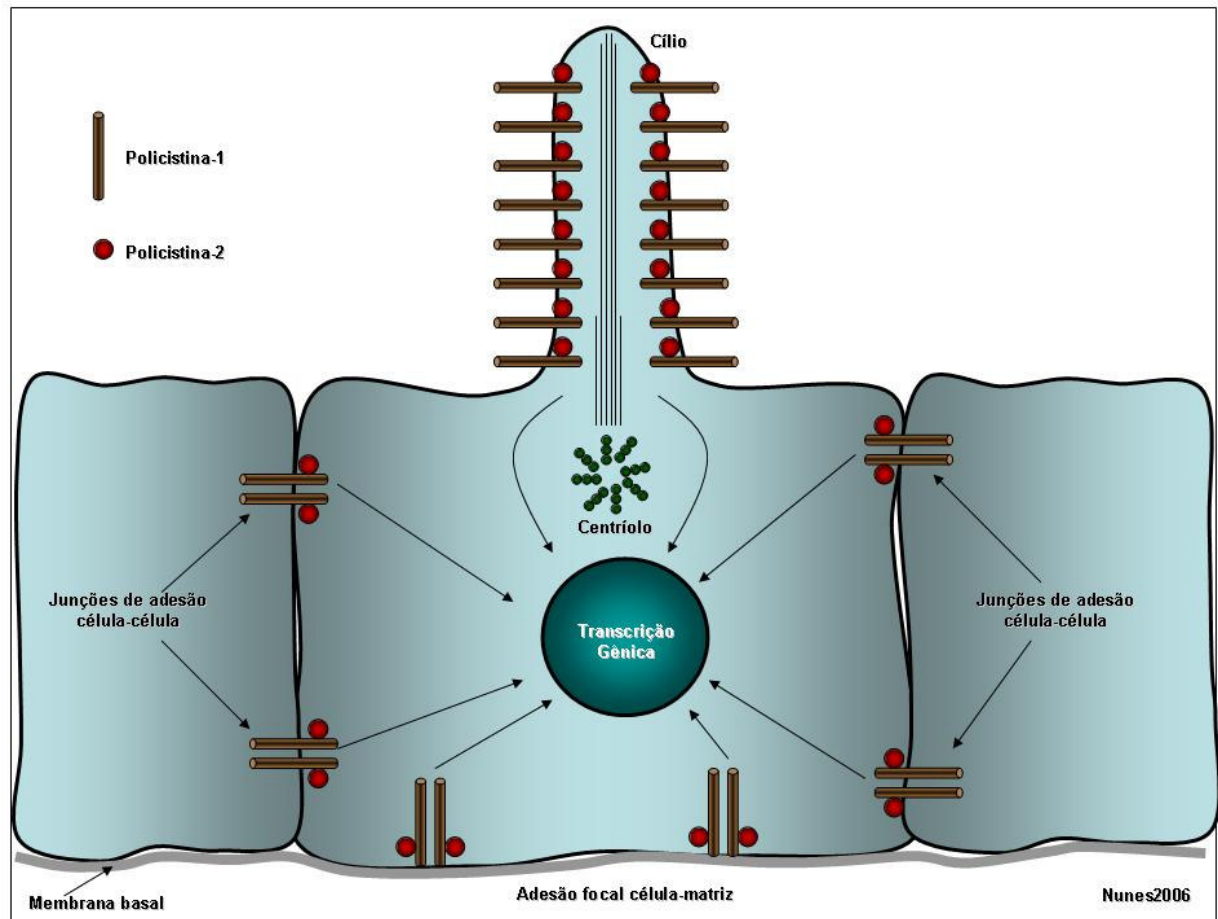


Figura 10: Ilustração da distribuição celular das policistinas e seus papéis na adesão célula-célula e célula-matriz, além da função de troca iônica no epitélio ciliar do túbulo renal.

O gene *PKD3* e a Policistina-3

Um pequeno número de famílias apresenta uma outra forma da doença renal que ainda não foi mapeada, sugerindo a existência de um terceiro gene envolvido na etiopatogenia da ADPKD. A idéia mais aceita é que esse gene atua no citoplasma como um catalisador da atividade de troca iônica, que é desempenhada pelas policistinas da membrana. Alguns estudos concordam com essa hipótese (BOGDANOVA *et al.*, 1995; DAOUST *et al.*, 1995 e de ALMEIDA *et al.*, 1995).

Contudo, há hipóteses de que as policistinas 1 e 2 possam desempenhar diferentes papéis, inclusive intracelulares, o que coloca a idéia da existência de um terceiro gene em dúvida (PATERSON & PEI, 1999).

Novos estudos nesse sentido poderão esclarecer melhor essa questão. E até que se tenha clonado algum gene que efetivamente desempenhe as funções citoplasmáticas de controle iônico na ADPKD, a existência do *PKD3* continua sendo especulativa.

Funções e Expressão Gênica das Policistinas

Os dados clínicos suportam a idéia do aumento da proliferação celular nessa doença e isso ocasiona um aumento no número de células na parede do cisto renal, a ocorrência de hiperplasia poliplóide do epitélio cístico e o aumento da freqüência de adenomas nos rins císticos (GABOW, 1993).

Embora alguns fatores de proliferação estejam envolvidos na cistogênese, isso não é o suficiente para a formação do cisto. A secreção de fluído também é necessária (GRANTHAM *et al.*, 2006).

Em experimentos *in vitro*, alguns cistos ou formas nodulares (semelhantes a adenomas) de células renais caninas da linhagem “Madin-Darby” dependem da proliferação com ou sem secreção. Nesse modelo, o estímulo do AMP cíclico, por substâncias como cafeína, produz fluído que ao ser secretado dilata o cisto, sugerindo uma ligação entre o sistema de comunicação celular e a cistogênese (BELIBI *et al.*, 2002 e 2004).

As policistinas ‘1’ e ‘2’ apresentam semelhanças em domínios transmembrana e na adesão extracelular (WATNICK & GERMINO, 1999). Uma ligação heterodimérica entre ambas, através de uma região α -hélice localizada na porção C-terminal das proteínas, permite que a interação entre elas seja forte. Há evidências da participação das policistinas em eventos como adesão extracelular e transporte iônico, que possibilitam a regulação do fluxo de Ca^{2+} transmembrana (GRANTHAM, 1996; HUSSON *et al.*, 2004).

As policistinas formam uma extensa família de proteínas composta por múltiplos membros. Várias moléculas ortólogas já foram descritas em invertebrados, peixes e mamíferos (GRIFFIN *et al.*, 1997a; CHEN *et al.*, 1999;

LI *et al.*, 2003a e 2003b). Em humanos, é expressa em vários tipos celulares e suas funções biológicas ainda não são totalmente conhecidas (SANDFORD *et al.*, 1997; GRIFFIN *et al.*, 1997b; GRIMM *et al.*, 2003 e 2006; DELMAS, 2005). As figuras 11 e 12 ilustram diferentes proteínas homólogas a PC-1 ou PC-2 que já foram descritas até o momento em humanos.

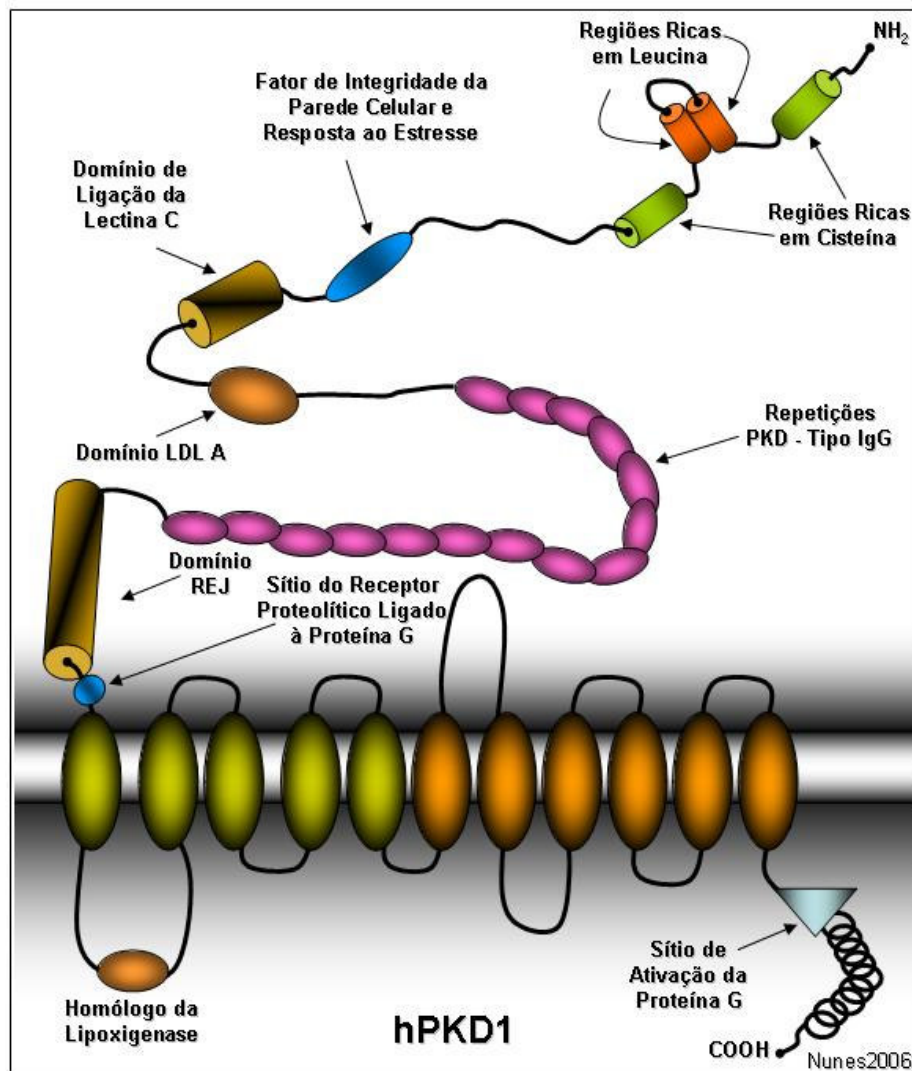


Figura 11: Ilustração da hPKD1, proteína homóloga a policistina-1 que foi descrita em humanos.

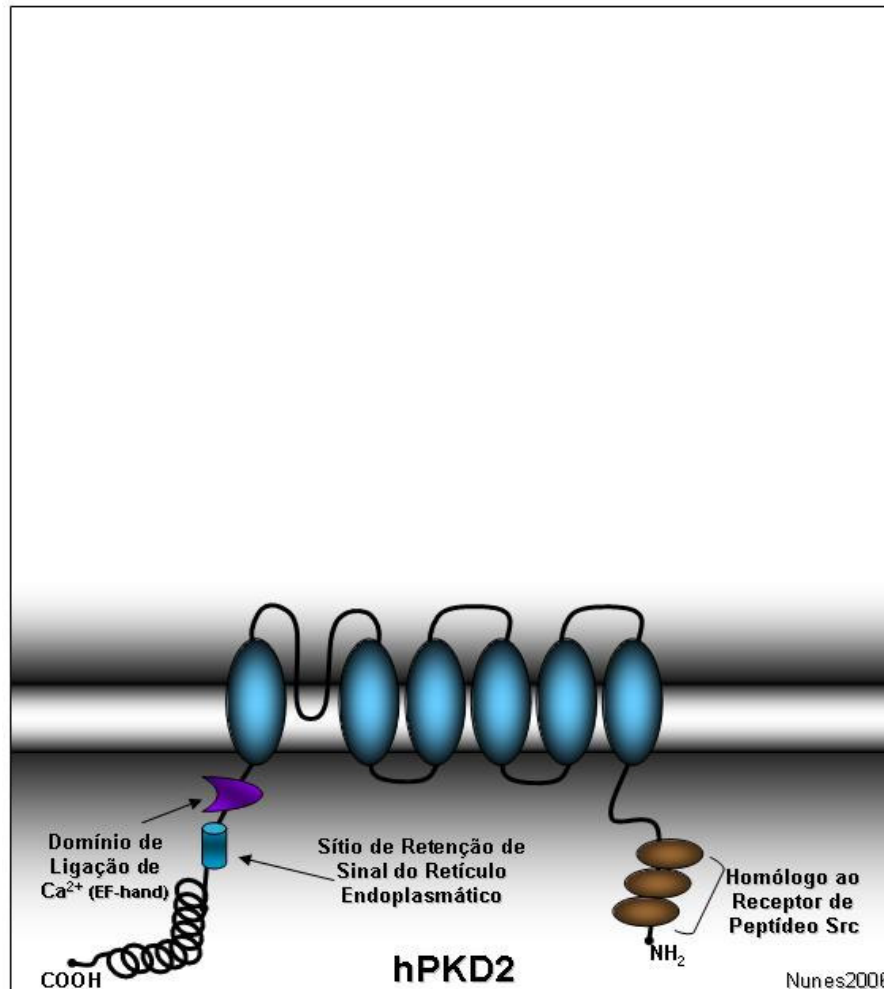


Figura 12: Ilustração da hPKD2, proteína homóloga a policistina-2 que foi descrita em humanos.

Ensaio realizados a partir do cDNA de toda extensão do gene PKD1 demonstraram a expressão da policistina-1 *in vitro* (O'SULLIVAN *et al.*, 1998). Anticorpos policlonais direcionados contra domínios específicos, extra e intracelulares, precipitaram a policistina-1, permitindo o uso deste grupo de anticorpos para determinar a localização desta proteína no epitélio renal e em células endoteliais, além de tecidos fetais, adultos e de origem cística. Em rins adultos e néfrons fetais maduros normais a expressão de policistina é restrita às células epiteliais do néfron distal e células endoteliais vasculares. A expressão no néfron proximal foi observada apenas quando a injúria na proliferação celular foi induzida. Em outros órgãos a expressão da policistina-1 é limitada ao ducto epitelial no fígado, pâncreas, coração e células específicas do cérebro. Esses dados sugerem que a policistina-1 também desempenha

funções de diferenciação epitelial e maturação celular (IBRAGHIMOV-BESKOVNAYA, 1997).

Um ponto bastante interessante é o fato da policistina-1 ser menos abundante em tecidos adultos do que em epitélio fetal e sua expressão ser significativamente maior em cistos ADPKD, sugerindo um “*feedback*” positivo devido a compostos alterados (IBRAGHIMOV-BESKOVNAYA, 1997).

Existe uma hipótese de consenso de que as diferentes expressões da doença envolvam os genes *PKD1*, *PKD2* e *PKD3* (apesar deste último ainda ter sido alvo de pouco estudos) e resultam de defeitos na interação de fatores envolvidos em uma mesma rota metabólica, provavelmente atuando como cascatas de sinalização na morfogênese tubular.

QIAN e colaboradores (1997) descreveram um domínio capaz de formar ligações helicoidais (*coiled-coil*) na porção C-terminal da policistina-1 que se liga especificamente com a porção C-terminal da policistina-2. Quando alguma mutação patogênica ocorre em um dos genes esta associação física *in vivo* é comprometida. Outra evidência dessa ligação bastante estável é o grau de conservação da porção final do gene *PKD1* (WATNICK *et al.*, 1998; TSUCHIYA *et al.*, 2001; RODOVA *et al.*, 2003).

Embora tenha um padrão de herança bem definido, ADPKD tem sido considerada como uma desordem recessiva sob o aspecto celular, sendo ambos os alelos *PKD1* necessários para sua inativação, onde o mecanismo desencadeador seria uma mutação germinativa, seguida então por uma mutação somática (GRANTHAM, 1996; PEI *et al.*, 1999).

Atualmente alguns estudos têm se concentrado na função, também atribuída às policistinas, de sinalização mecano-sensitiva de cílios primários (WANG *et al.*, 2004). A conexão entre estruturas ciliares e ADPKD foi observada a partir de dois modelos animais com rins policísticos de caráter autossômico recessivo (ARPKD), conhecidos como *Orpk* e *Cpk* (*congenital polycystic kidney*). Nos camundongos *Orpk* homozigotos para uma mutação no gene *Inv* que codifica a proteína *inversina* foi observada a expressão acentuada de cílios primários no epitélio renal (MORGAN *et al.*, 1998). Camundongos *Orpk* afetados por mutação em outro gene, *Tg737*, codificam

uma nova proteína chamada *polaris*, localizada em corpos ciliares basais e no axonema, que apresentam defeitos no desenvolvimento e assimetria ciliar (PAZOUR *et al.*, 2002).

Em outros estudos com modelo animal (ratos *pck*), mutações no gene *Cpk* deram origem à proteína *cistina*, co-localizada com as proteínas *polaris* e tubulina em células epiteliais renais (LAGER *et al.*, 2001; HOU *et al.*, 2002; YODER *et al.*, 2002).

Trabalhos mais recentes confirmam que o canal policistina-1/policistina-2 está ligado à associação de proteínas microtubulares em cílios primários. A função senso-ciliar atuaria como evento sinalizador que leva à proliferação e à ativação para transporte de íons. Sinais intracelulares mediados pelas policistinas também incluem regulação de proteínas GPS (*G-protein-coupled-receptor proteolysis site*) e cascatas de ativação de quinases. Ainda que sejam hipóteses e inferências, parece essencial a presença de proteínas ciliares no mecanismo sensível das policistinas (NAULI *et al.*, 2003).

CHAVEUT e colaboradores (2004) relatam rotas alternativas e/ou paralelas atuando a partir de estímulos ciliares e que, através de eventos proteolíticos, clivam as porções N-terminal extracelular e C-terminal intracelular. Este fragmento de cerca de 200 aminoácidos se transloca ao núcleo, ativando rotas de sinalização celular (quinases e fosfatases) e atuando como modulador de expressão gênica das policistinas.

As policistinas possuem atividade relacionada com sinalização de moléculas e rotas metabólicas, assim como vasta distribuição em organismos de todo reino animal, com exceção apenas de seres unicelulares. Classificadas quanto à estrutura molecular, as chamadas *PKD1Like* (*PKD1*, *PKD1L1-3* e *PKDREJ - receptor for egg-jelly*) possuem uma extensa porção extracelular, 11 domínios transmembrana e curta porção intracelular (figura 13).

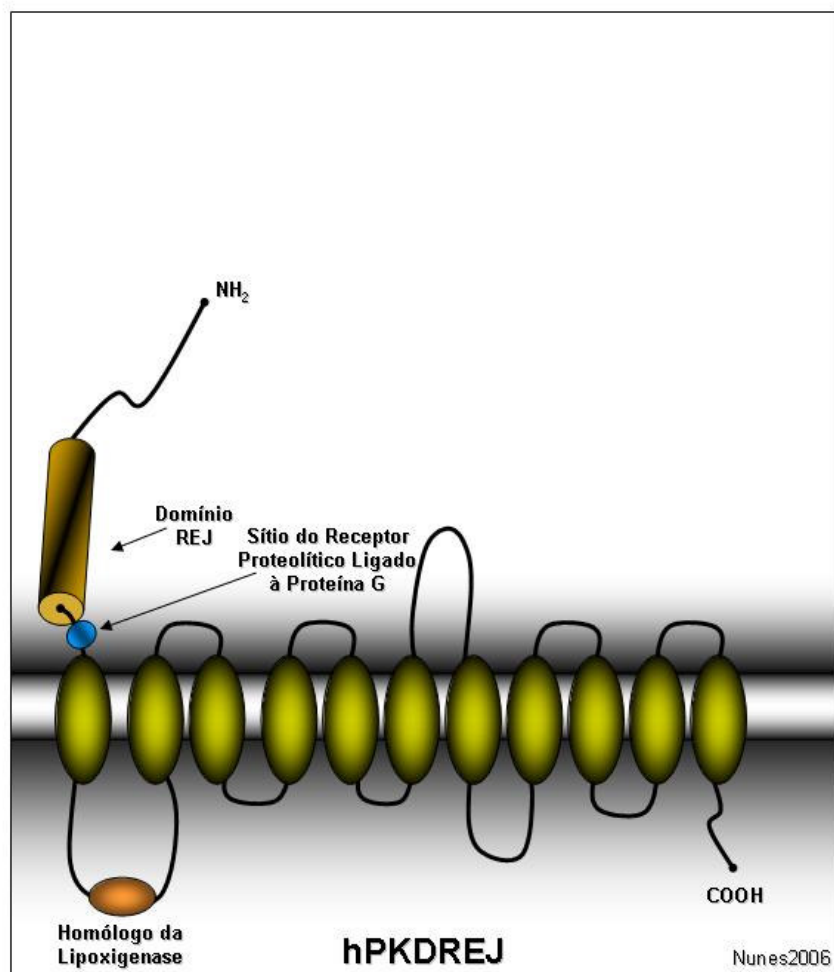


Figura 13: Ilustração da hPKDREJ, proteína homóloga a policistina-1 e ao receptor espermático de equinodermatas e que foi descrita em humanos.

A porção REJ tem papel crucial nos eventos de sinalização celular e, paralelamente, como pré-requisito na exocitose da vesícula acrossomal por processos de concentração $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (QIAN *et al.*, 2002; MENGERINK *et al.*, 2000). As proteínas homólogas descritas em equinodermatas também apresentam características moleculares semelhantes (figuras 14 e 15).

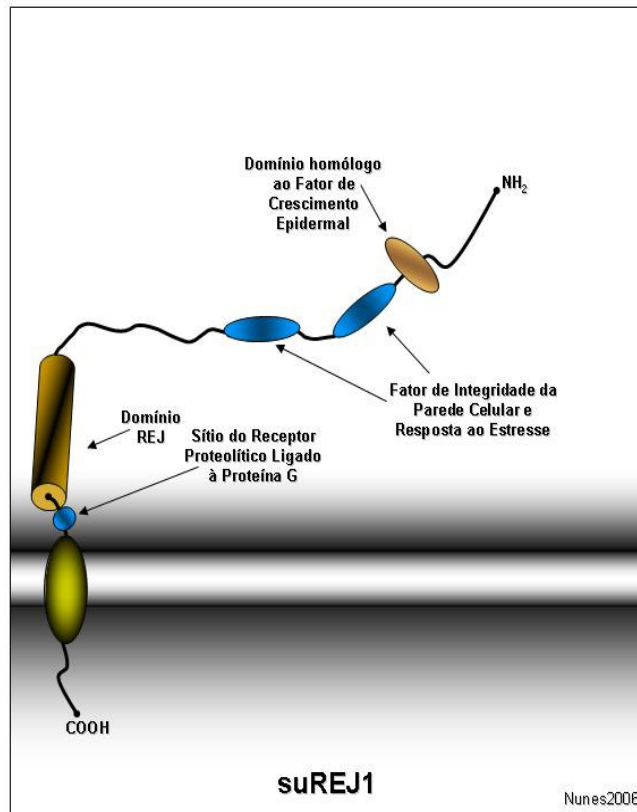


Figura 14: Ilustração da suREJ1, proteína do receptor espermático de equinodermatas

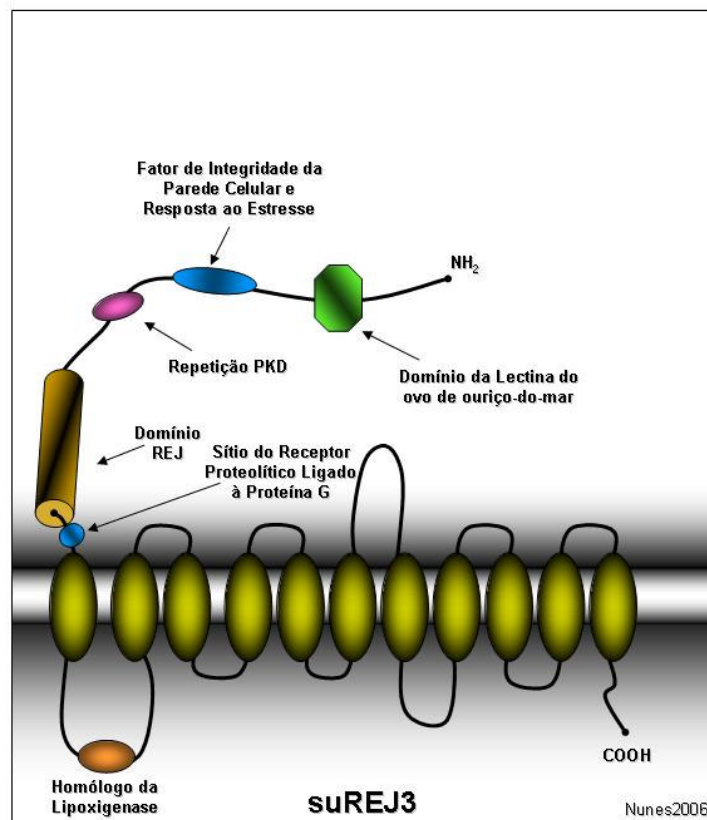


Figura 15: Ilustração da suREJ3, proteína do receptor espermático de equinodermatas e homóloga a policistina-1.

Outros estudos com o nematódeo *Caenorhabditis elegans* revelaram a expressão da *lov-1* (*location of vulva* - figura 16), proteína homóloga às policistinas 1 e 2, na diferenciação e comportamento sexual desta espécie (QIN *et al.*, 2001). Cílios primários neurais localizados na cabeça e na cauda desempenham ainda funções tácteis do ambiente e resposta ao meio. Este verme parece ser mais um bom modelo para a ADPKD, além dos murinos, caninos e felinos já estudados (JAUREGUI e BARR, 2005; XIAOYING *et al.*, 2002; YOUNG *et al.*, 2005; ONG e WHEATLEY, 2003; ZHANG *et al.*, 2004).

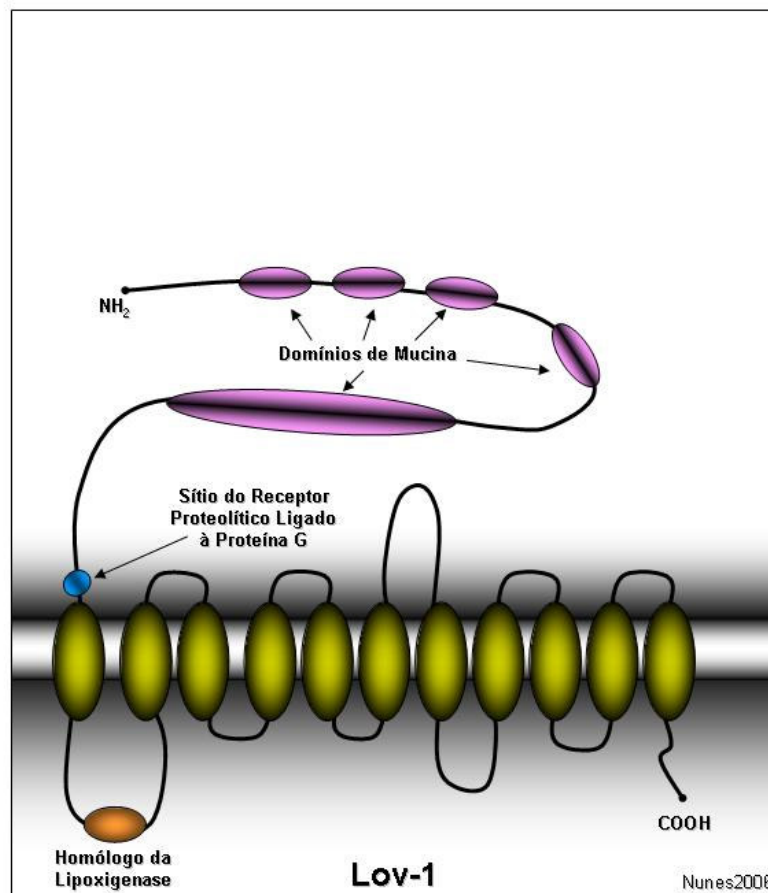


Figura 16: Ilustração da Lov-1, proteína homóloga a policistina-1 descrita em *C. elegans*.

Evidências apontam também associação das policistinas com a formação do canal iônico, além da participação de subunidades protéicas na sinalização para o acoplamento estrutural e ativação de rotas metabólicas (SHILLINGFORD *et al.*, 2006). Essas ativações, por sua vez, determinam eventos como crescimento, diferenciação, apoptose e remodelamento tecidual, em especial durante a cistogênese (DELMAS *et al.*, 2004).

Controle da Cistogênese

Na evolução clínica da ADPKD há a dilatação progressiva de segmentos tubulares. A perda da morfogênese tubular normal em pacientes com ADPKD necessita da atividade coordenada de diferentes elementos, sendo que a maioria deles envolvidos no crescimento celular, remodelamento da matriz extracelular e secreção de fluídos.

Estudos da proliferação celular sustentam o conceito de que a predisposição de transformação do epitélio tubular é coordenada pela atividade de outros fatores ambientais necessários para o processo inicial da cistogênese, além de fatores genéticos intrínsecos, como mutações somáticas adicionais ou perda de heterozigidade (HOCHER *et al.*, 2003).

A combinação destes mecanismos potenciais da cistogênese leva aos diferentes estágios da doença. A proliferação celular e mudanças extracelulares são provavelmente as causas de predisposição dando início à dilatação das estruturas tubulares. Sem a secreção de fluídos, a proliferação celular dá origem, preferencialmente, à formação de tumores sólidos, no qual cistos e carcinomas renais coexistem (GRANTHAM *et al.*, 1987).

Por outro lado, mudanças na composição da matriz extracelular resultaram no bloqueio da cistogênese *in vitro*, sugerindo uma interação célula-célula e/ou célula-matriz extracelular (STREETS *et al.*, 2003). Interações célula-matriz extracelular também são vitais em funções regulatórias e na manutenção da integridade tecidual (SESSA *et al.*, 1997).

Aparentemente o metabolismo do adenosina monofosfato cíclico (cAMP) é o componente central da formação, estimulação de secreção e acúmulo de fluidos císticos (YAMAGUCHI *et al.*, 2000; TORRES, 2004). Nas células renais normais a proliferação celular é inibida pelo cAMP, diferentemente nas células ADPKD ocorre estimulação de proliferação celular. Há evidências que o cAMP e fatores de crescimento epiteliais atuam como efeitos complementares na progressão da doença (GRANTHAM, 2002).

Níveis consideráveis de RNAm para colágeno e laminina foram encontrados em rins de camundongos *cpk/cpk*, o modelo animal para PKD

recessivo. Em analogia, células PKD em cultura produziram níveis elevados de compostos de colágeno, sugerindo que células epiteliais em matrizes de colágeno podem mudar sua orientação e tipos de interações celulares. Isso envolve a polaridade e a localização de transportadores de água e solutos, como glicose, que pode ter seu metabolismo alterado em condições císticas (STREETS *et al.*, 2006).

O monitoramento da Na^+/K^+ ATPase nos diferentes estágios de cistogênese em camundongos *Cpk/Cpk* mostrou um aumento circunstancial durante o desenvolvimento de cistos (CANDIANO *et al.*, 1992), dando a essa enzima um papel de potente mediador de secreção de fluídos e solutos em cistos no paciente ADPKD. A figura 17 ilustra o provável mecanismo de inversão da polaridade iônica envolvido na gênese do cisto renal.

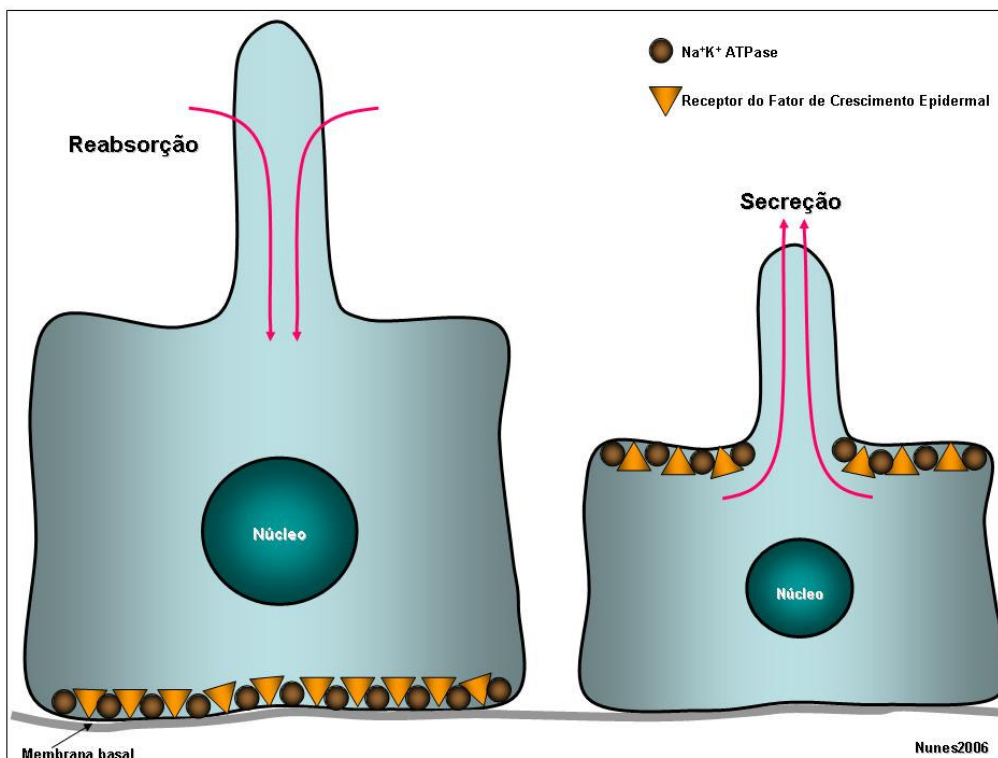


Figura 17: Mecanismo de inversão da polaridade do fluxo iônico no epitélio ciliar que altera a função celular, passando de absorvente para secretora.

Um mecanismo potencial para a secreção de fluídos pode ser a localização anormal da Na^+/K^+ ATPase no epitélio cístico. O epitélio cístico humano possui Na^+/K^+ ATPase localizada da posição apical em direção à porção basolateral das células. Embora essa alteração da polaridade celular

possa contribuir para a cistogênese da ADPKD e também possa ser aplicada ao modelo murino (camundongos *cpk*) de ARPDK, ela não parece competente o bastante na etiopatogenia dessa doença, uma vez que a Na⁺/K⁺ ATPase tem distribuição basolateral normal na doença cística induzida quimicamente e na doença policística autossômica recessiva em humanos (GABOW, 1993).

Por outro lado, estudos histopatológicos de rins com ADPKD têm confirmado que a formação dos cistos inicia com o crescimento anormal de um túbulo em qualquer segmento do néfron, inclusive naqueles com origens embrionárias diferentes (EVAN e McATEER, 1992; SHÄFER *et al.*, 1994). Essas observações sugerem que a formação dos cistos ocorre num processo de duas etapas, onde além da mutação herdada no locus do gene da ADPKD que se está investigando, há a necessidade de outro estímulo para o início da cistogênese, provavelmente uma mutação somática. Essa hipótese é sustentada, ainda, pela idéia de que os cistos renais são monoclonais (QIAN *et al.*, 1996).

O mecanismo de inativação do cromossomo X tem sido comumente usado para demonstrar a natureza clonal de tumores. A reação em cadeia da polimerase (PCR), baseada em ensaios de clonagem tem sido aplicada a uma quantidade de modelos. Esse método expõe sítios de restrição sensíveis à metilação (*HpaII* e *HhaI*), tais como o do gene do receptor do androgênio ligado às repetições (CAG)_n altamente polimórficas encontradas no cromossomo X. O padrão de metilação desses sítios se correlaciona com a inativação do cromossomo X. William e colaboradores usaram esse princípio e demonstraram a natureza monoclonal da histiocitose X (WILLIAM *et al.*, 1994). Qian e colaboradores modificaram a técnica e determinaram a natureza monoclonal que as células epiteliais podem assumir em um único cisto. Nesse estudo foram isoladas amostras de DNA a partir de células do epitélio cístico recolhidos por microdissecção. Foram avaliados 76 cistos renais de 8 mulheres afetadas e 6 cistos (82%) foram considerados monoclonais. Outro teste usado pelos autores foi o cálculo da perda de heterogeneidade alélica através do microssatélite intragênico KG8 do gene *PKD1*.

Esse marcador está localizado na região 3' não-traduzida do gene (SNAREY *et al.*, 1994). Normalmente dois alelos são amplificados na maioria

das amostras. Num pequeno subgrupo, apenas uma banda simples foi amplificada por PCR. Como controle endógeno, foram usados primers do gene do receptor do androgênio. Ao todo, 46 cistos de quatro doadores foram avaliados por KG8 e 17% foram identificados como hemizigotos para esse marcador. Para confirmar os resultados, foi usado um segundo marcador não-intragênico, mas imediatamente próximo ao gene PKD1, distante apenas 70 Kb da região altamente polimórfica: EJ1. Foi encontrada uma concordância quase completa (exceto por uma amostra) entre os resultados de KG8 e EJ1. Esse estudo foi muito importante na determinação do comportamento clonal que os cistos assumem durante sua expansão.

Outras Interações Moleculares

Se por um lado a etiologia dos rins policísticos pode ser explicada por mutações em genes específicos (*PKD1*, *PKD2* ou *PKD3*), o mecanismo de expansão dos cistos ou a própria progressão da doença renal policística não podem ser explicados por mutações isoladas nesses genes. Desse modo, diversas hipóteses de interações moleculares são apontadas como possíveis co-participantes desse processo, conforme apresentado anteriormente na figura 2 (página 15).

Um exemplo é a participação da proteína Tg737 (MURCIA *et al.*, 1998). Como o gene humano para a forma recessiva da doença renal (doença renal policística da infância) não foi identificado a partir de clones, o gene associado ao camundongo mutante *orpk* é atualmente usado como modelo.

Assim como em humanos, o modelo animal *orpk* apresenta doença hepatorenal. A caracterização do locus mutante aponta o gene Tg737 como associado ao fenótipo nesse modelo. A análise do DNA complementar indica que o gene Tg737 expressa um RNA mensageiro de 3,2 Kb que codifica um polipeptídeo de 824 aminoácidos. A proteína Tg737 contém 10 cópias de repetições tetratricopeptídicas, um motivo bastante conservado que foi originalmente identificado em vários genes do ciclo de controle celular. Esse

motivo também já foi identificado em proteínas que não apenas controlam o ciclo celular, mas também que participam da regulação de rotas metabólicas, incluindo transporte de proteínas, regulação da transcrição e diferenciação celular. O gene Tg737 é altamente conservado entre humanos e murinos. O gene humano produz um RNA mensageiro que codifica uma proteína quase idêntica em tamanho à proteína murina. O mapeamento cromossômico mostra que esse gene se localiza no braço longo do cromossomo 13, numa posição próxima ao centrômero.

Um complexo de macromoléculas pode estar envolvido no surgimento e progressão dos rins policísticos (MURCIA *et al.*, 1998). Esse complexo que envolve policistina-1, policistina-2 e Tg737, proteínas existentes na membrana citoplasmática, pode ser ancorado por outras proteínas como a actina do citoesqueleto, α -catenina, p120-catenina, as quais se sabe formam ligações com Tg737 (HUAN e vanADELSBERG, 1999; RODOVA *et al.*, 2002). Admitindo-se que a policistina-2 pode formar um canal ativado de Ca^{2+} , como um homodímero, a conexão de um ligante indefinido ao domínio extracelular da policistina-1 pode mediar as alterações na regulação intracelular do Ca^{2+} (BABICH *et al.*, 2004). Esse ligante indefinido também pode facilitar as modificações na fosforilação da policistina-1, a qual pode participar da transdução de sinais na célula. Como resposta a essa conexão do ligante indefinido, pode haver o desprendimento da Tg737 das moléculas associadas a ela na membrana, o que potencialmente permite que a Tg737 se mova até o núcleo onde pode se associar a outras proteínas, como o fator de transcrição HNF4. De acordo com esse modelo, sem a policistina-1, policistina-2 ou a Tg737, devem acontecer mudanças no Ca^{2+} intracelular e na transdução de sinais, alteração na actina do citoesqueleto e mudanças na transcrição dos genes (figura 18). Essas mudanças dentro das células podem coletivamente dar início às características proliferativas, secretoras e às alterações da matriz extracelular que levam, em última instância, à formação dos cistos renais na doença renal policística (ORELLANA e AVNER, 1995).

Outro mecanismo proposto envolve a rota do receptor do fator de crescimento epidermal (EGFR- *Epidermal Growth factor receptor*). O EGFR está normalmente localizado na superfície basolateral das células do epitélio renal. Uma localização mista do EGFR, com distribuição tanto na superfície

basolateral quanto apical, em linhagens de células do ducto coletor é conhecida por ocorrer tanto em humanos quanto em camundongos com diversas formas da PKD que foram iniciadas por diferentes genes mutantes. Com a alteração da localização do EGFR para a superfície apical há um aumento tanto na produção do RNAm dessa proteína quanto na atividade tirosina quinase nos rins císticos que o EGFR possui (ORELLANA *et al.*, 1995).

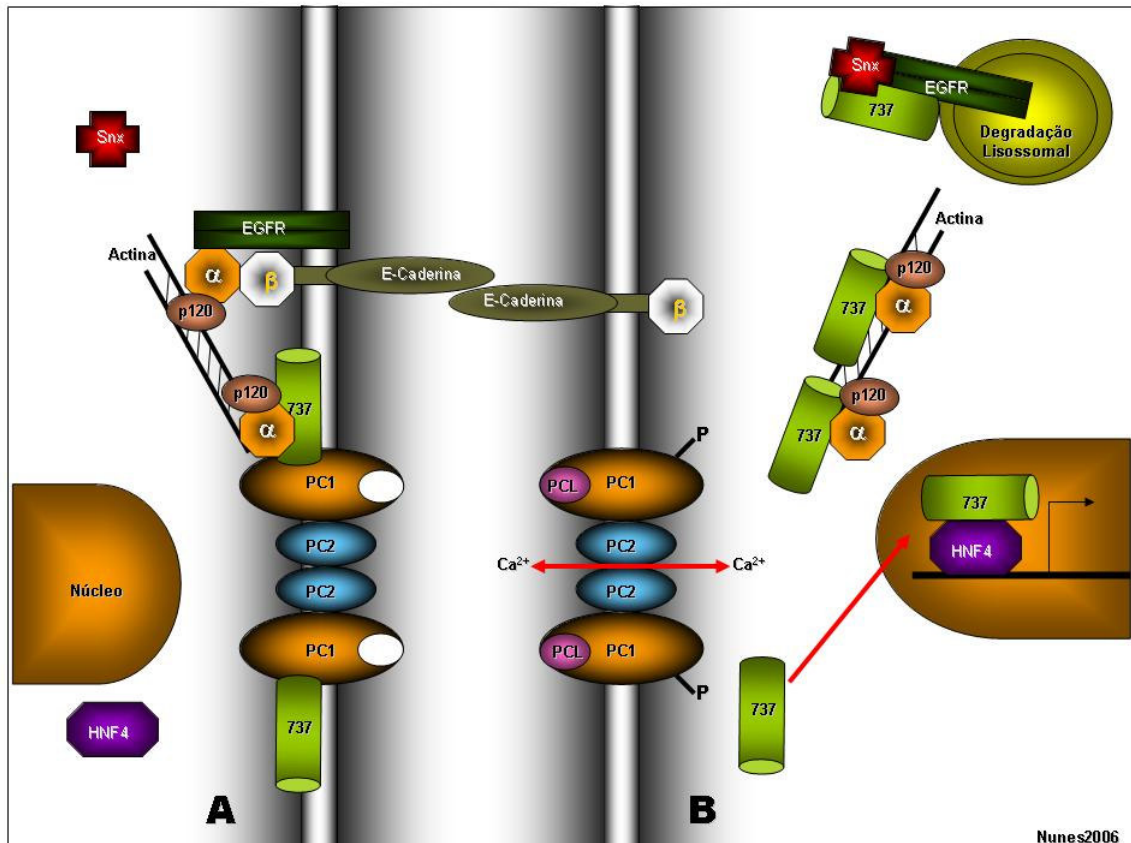


Figura 18: A) Um grande complexo consistido da PC1, PC2, 737, α -catenina (α) e p120-catenina (p120) pode se ligar com o complexo α /p-120/ β -catenina/E-caderina e ao complexo α /EGFR através do citoesqueleto de actina. **B)** Pela ligação de um ligante indefinido da policistina-1 (PCL), podem ocorrer alterações na concentração intracelular de Ca^{2+} , transdução de sinais, transcrição gênica e degradação do RFCE. Snx, variante da nexina especializada na degradação lisossomal; HNF4, fator nuclear 4 do hepatócito.

Em adição ao papel do complexo protéico PKD, a Tg737 pode ainda ter um papel importante na sinalização do EGFR através da sua associação com a Snx1, uma variante selecionada da nexina. Normalmente a Snx1 está envolvida na degradação lisossomal do EGFR, através de ligações à membrana desse fator. Com a possibilidade de associação da Tg737 com a Snx1 promove uma modificação na estabilidade de ligação entre a Snx1 e EGFR. Na ausência da Tg737, como ocorre nos rins mutantes, a Snx1 pode

assumir uma função inadequada, guiando uma estabilização relativa do EGFR na membrana celular, o que pode ocorrer, preferencialmente, na superfície apical e pode ser responsável pelo aumento significativo dos níveis de EGFR observado na superfície apical do epitélio cístico (MURCIA *et al.*, 1998).

Há um interesse considerável na definição de outras moléculas ou alterações nas rotas de progressão da PKD, em adição a identificação e estudo dos genes que são responsáveis pelo início da doença (GALLAGHER *et al.*, 2000). Um número considerável de alterações celulares tem sido identificado em rins mutantes de humanos e de vários modelos de camundongos para PKD, inclusive o aumento da expressão gênica de diversos protooncogenes (MURCIA *et al.*, 1998). Entretanto, não está claro se essas alterações são responsáveis pela progressão da doença ou se são simplesmente secundárias. Isso poderia refletir anormalidades da matriz extracelular, da proliferação celular ou alterações na polaridade da membrana que são comumente observadas na PKD tanto em humanos quanto nos modelos animais disponíveis para estudo (GATTONE *et al.*, 2002).

Esse interesse por novas moléculas envolvidas na progressão da doença renal policística é importante para que sejam definidas estratégias terapêuticas para os pacientes. Algumas abordagens parecem contribuir nesse sentido, como a participação de caspases (TAO *et al.*, 2005b) e ATP (WILSON *et al.*, 1999).

O que diversos autores concordam é que a compreensão dos mecanismos envolvidos nos rins policísticos contribuirá não apenas para o entendimento dessa doença, mas também para o esclarecimento de algumas variantes da função renal (COTTON *et al.*, 1998; MURCIA *et al.*, 1999; WILSON, 2001 e 2004; HUSSON *et al.*, 2004; AL-BHALAL & AKHTAR, 2005; ONG & HARRIS, 2005; GRANTHAM *et al.*, 2006).





ARTIGO

**Prevalência, perfil clínico e molecular da doença renal
policística do adulto em pacientes submetidos à
hemodiálise no sul do Brasil**

Prevalência, perfil clínico e molecular de pacientes com doença renal policística do adulto no sul do Brasil

Ane Cláudia Fernandes Nunes¹, Vagner Milani¹, Renato Moreira Rosa², Nicolas Carlos Hoch², Tiago Veiga Pereira³, Daiana Benck Porsch¹, Liana Bertolin Rossato¹, Cristiane Bastos Mattos¹, Israel Roisenberg⁴ e Elvino José Guardão Barros¹

- 1) Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, Brasil
- 2) Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, Brasil
- 3) Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular. Instituto do Coração Universidade Federal de São Paulo, São Paulo/SP, Brasil
- 4) Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, Brasil

Contato:

Profa. Ane Nunes
Fone/Fax: + 55-21-3411-2214
Celular: +55-21-8776-7676
E-mail: ane.nunes@terra.com.br

Título de apoio: Rins policísticos no sul do Brasil

Total de palavras no corpo do texto: 2.554

Palavras-chave:

1. doença renal policística
2. doença renal crônica terminal
3. gene *PKD1*
4. ADPKD

RESUMO

Introdução: A doença renal policística autossômica dominante (ADPKD) é uma das nefropatias genéticas mais comuns com uma prevalência de 1:800 indivíduos da população em geral e entre 5-10% dos pacientes submetidos à hemodiálise. Existem poucos dados epidemiológicos sobre essa doença no Brasil. Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi investigar tanto a prevalência quanto o perfil clínico e molecular da ADPKD entre os pacientes submetidos à hemodiálise no sul do Brasil.

Métodos: Esse estudo transversal prospectivo envolveu 24 centros de hemodiálise durante 5 anos de investigação. Os pacientes foram selecionados para ADPKD de acordo com as informações clínicas, laboratoriais e exames de imagem existentes nos registros médicos.

Resultados: Dentre os 1326 pacientes em hemodiálise no sul do Brasil que compuseram a amostra, 99 (7,5%) apresentavam rins policísticos como causa primária da insuficiência renal crônica. As comparações entre os subgrupos avaliados (ADPKD e não-ADPKD) não revelaram diferenças com relevância estatística para média de idade, gênero e etnia. Foram identificadas 42 mutações na região 3' do gene PKD1 em 17 pacientes ADPKD analisados.

Conclusões: Nossos dados revelam a prevalência da ADPKD entre os pacientes submetidos à hemodiálise no sul do Brasil. Além disso, o perfil clínico da ADPKD observado na amostra estudada é semelhante aos dados descritos nas populações norte-americana e européia. Isso pode ser atribuído à semelhança na composição étnica da nossa amostra, onde predominam os descendentes de imigrantes europeus. Nenhuma mutação nova foi observada na amostra. Da mesma forma, nenhuma relação entre a evolução clínica e o perfil molecular dos pacientes foi identificada.

INTRODUÇÃO

A doença renal policística autossômica dominante (ADPKD) é uma das doenças genéticas mais freqüentes, constituindo uma importante causa de insuficiência renal. Essa doença pode ser identificada em até 10% dos pacientes em hemodiálise na Europa e Estados Unidos [1,2] e em cerca de 3% dos pacientes na Ásia [3]. A ADPKD afeta um a cada 800-1000 indivíduos da população geral e é responsável por uma a cada 3000 internações hospitalares [1,4,5]. Um estudo previamente publicado indicou que 7,6% dos pacientes submetidos à hemodiálise em Porto Alegre, capital do Rio Grande do Sul (sul do Brasil), tinham diagnóstico de rins policísticos [6].

A ADPKD é causada basicamente por mutações em genes específicos no cromossomo 16 (*PKD1*) e 4 (*PKD2*), que codificam as policistinas 1 e 2, respectivamente. As policistinas são proteínas que participam de processos celulares básicos como proliferação, diferenciação e transporte molecular [4]. Diversos tipos de mutação já foram descritos nos genes *PKD1* e *PKD2*, o que pode causar uma redução aparente na função das policistinas e resultar na formação de cistos [3,7,8].

Os cistos são clinicamente detectáveis nos rins, fígado e pâncreas, mas também podem ser observados em diversos tecidos epiteliais [1,4]. Além disso, algumas complicações e comorbidades são descritas nos pacientes com rins policísticos, tais como hematúria, proteinúria, hipertensão, diverticulose, infecções urinárias, litíase renal e neoplasia [1,2,4-7]. Também já foram descritos aneurismas cerebrais em aproximadamente 5% dos pacientes e anormalidades cardiovasculares em cerca de 25% [5,9-13].

Os dados epidemiológicos de prevalência da ADPKD são extensamente publicados em outros países, principalmente nos Estados Unidos e na Europa. Um pequeno número de estudos sobre a epidemiologia dos rins policísticos está disponível no Brasil, sendo que a prevalência varia de 3,3% a 7,6% entre os pacientes submetidos à hemodiálise [6,11]. Desse modo, o objetivo do presente estudo foi investigar a prevalência, o perfil clínico e molecular da ADPKD nesses pacientes.

MATERIAIS E MÉTODOS

- População de estudo

Trata-se de um estudo transversal prospectivo que analisou os pacientes atendidos em 24 centros de hemodiálise localizados na região sul do Brasil (Rio Grande do Sul). O estudo foi conduzido em 10 cidades (Porto Alegre, Camaquã, Soledade, Santa Maria, Lajeado, Santa Cruz do Sul, Caxias do Sul, Passo Fundo, Novo Hamburgo e Canoas) através da investigação de prontuários, no período de dezembro de 2000 a dezembro de 2005.

Foram considerados como critérios de inclusão: (i) existência de história familiar de rins policísticos e (ii) exame de imagem positivo para ADPKD, conforme Ravine *et al.* [14]: pacientes jovens com até 30 anos devem ter até dois cistos em um dos rins; entre 30 e 59 anos os pacientes devem ter dois cistos em cada rim e pacientes com 60 anos ou mais devem ter quatro cistos em ambos os rins.

Além da data de início do tratamento por hemodiálise, algumas informações clínicas anteriores à hemodiálise, coletadas a partir de relatos dos pacientes, foram avaliadas como dados complementares, tais como: história progressiva de hematúria macroscópica, infecção urinária de repetição, litíase renal, hipertensão, diverticulose, cistos hepáticos e aneurisma.

Também foram analisados como dados complementares alguns parâmetros clínicos aferidos durante o tratamento dialítico, sendo eles: uréia pré-diálise, uréia pós-diálise, creatinina sérica, cálcio, potássio, fósforo, albumina e globulina. Para essas variáveis foram considerados os valores mais recentes disponíveis nos prontuários. Os valores de referência normais para pressão arterial sistêmica foram: pressão sangüínea sistólica <120 mmHg e pressão sangüínea diastólica <90 mmHg.

Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (IRB nº 00000921 - *International Review Board*). Todos os pacientes convidados a participar do estudo foram informados quanto aos objetivos da investigação e a admissão na amostra dependia da assinatura de um consentimento informado.

- Análise molecular

Para garantir que fossem selecionados pacientes com ADPKD tipo '1', foram analisados somente os pacientes com idade média de diagnóstico de 40 ± 5 anos. Desse modo, dentre os pacientes ADPKD identificados foram obtidas amostras de DNA de 32 indivíduos não relacionados para análise mutacional descritiva. O DNA total dos pacientes foi isolado a partir de sangue periférico e isolado pela técnica de desproteíntização diferencial por sal [15]. As amostras de DNA foram flanqueadas por oligonucleotídeos na região 3' do gene *PKD1* e foram amplificadas por PCR. Os produtos de PCR foram analisados por seqüenciador automático (MegaBACE 1000 – GE HealthCare), conforme instruções do fabricante. Os dados obtidos foram comparados pela plataforma BLAST do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

- Análise estatística

Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão (DP). As diferenças entre os pacientes ADPKD e não-ADPKD foram comparadas pelo teste t não pareado para as variáveis com distribuição normal e pelo teste não-paramétrico de Mann-Whitney para as variáveis com distribuição distorcida. As diferenças entre as freqüências foram calculadas pelo teste do Qui-quadrado (χ^2), com correção de Yates quando necessário. A análise dos dados foi processada pelos pacotes estatísticos SPSS 8.0 (SPSS Inc, Chicago, IL) e STATA 7 (College Station, Texas). A margem de significância foi estabelecida em 0,05.

RESULTADOS

Foram avaliados 1.326 pacientes de 24 centros de diálise. Dentre esses, 99 (7,5%) apresentaram o diagnóstico definitivo de doença renal policística como causa da insuficiência renal crônica terminal, 74 indivíduos apresentaram informações clínicas disponíveis no prontuário e 47 dispunham de dados bioquímicos.

Em relação à idade média dos pacientes e a distribuição por sexo não foram observadas diferenças relevantes do ponto de vista estatístico. Os dados demográficos estão resumidos na tabela 1.

A informação etnia foi baseada na autodeterminação dos pacientes. A maioria dos pacientes avaliados consiste em Euro-descendentes (77%) e nesse grupo 7,7% dos pacientes apresentam diagnóstico de ADPKD. O restante da amostra consiste em Afro-descendentes (23%) e entre esses 6,9% são portadores de ADPKD. A diferença entre os valores da frequência de ADPKD entre esses dois grupos étnicos não caracteriza uma diferença estatisticamente significativa. Esse é o primeiro dado epidemiológico sobre a doença renal policística do adulto descrito para Afro-descendentes brasileiros. Nenhum paciente de outro grupo étnico foi observado na nossa amostra.

De um modo geral, diversas patologias associadas aos rins policísticos foram observadas. A mais comum foi a hipertensão, observada em 49% dos pacientes com diagnóstico de ADPKD. O diabetes mellitus foi observado em apenas três pacientes ADPKD.

A hematúria macroscópica é um dos sinais comuns da doença renal policística [4]. Entretanto, esse achado, analisado através de relatos, foi observado em apenas quatro pacientes (6%) com diagnóstico de rins policísticos e em 16 pacientes (1,9%) do grupo não-ADPKD ($P= 0,06$). A litíase renal também é tida como uma comorbidade comum e, nesse estudo, foi descrita por 8 pacientes (12%) com ADPKD, um número significativamente alto quando comparado aos 3% observados entre pacientes não-ADPKD ($P=0,03$). A presença de infecção urinária foi similar nos grupos.

Como era esperado, os cistos hepáticos foram relatados apenas nos pacientes com rins policísticos [1] e apenas um paciente com rins policísticos

teve diagnóstico de aneurisma cerebral. As características das patologias associadas estão sumarizadas na tabela 2.

Os níveis séricos de creatinina, potássio e fósforo foram significativamente maiores nos pacientes com ADPKD. Outras variáveis como cálcio, albumina, globulina, uréia pré e pós diálise foram semelhantes nos dois grupos. Os parâmetros laboratoriais dos pacientes em hemodiálise estão apresentados na tabela 3.

Dos 32 pacientes selecionados para análise mutacional descritiva, apenas 17 apresentaram alterações na seqüência de DNA da região 3' do gene *PKD1*. Ao todo foram identificadas 42 mutações, sendo elas: 12 inserções, 6 deleções, 13 transversões e 11 transições. Nenhuma mutação nova foi observada na amostra estudada. As alterações de nucleotídeos encontradas estão descritas na tabela 4.

DISCUSSÃO

A ADPKD é o melhor exemplo de doença cística renal monogênica relacionado ao fenótipo policístico [1,2] e constitui uma importante causa de insuficiência renal, 50% de todos os pacientes afetados desenvolvem insuficiência renal crônica terminal (IRCT) [2,16-18].

Nesse estudo, foi avaliada a prevalência e os parâmetros clínicos de pacientes com rins policísticos e IRCT submetidos à hemodiálise no Rio Grande do Sul, região sul do Brasil. Foi observado que 7,5% dos pacientes desse grupo apresentam doença renal policística como causa da IRCT.

A maioria dos pacientes estudados é descendente de europeus. Nesse sentido, o valor da prevalência concorda com dados previamente publicados nos Estados Unidos e Europa, onde 8-10% dos pacientes em hemodiálise têm ADPKD. Entretanto, os resultados apresentados aqui contrastam com a prevalência de 3,3% previamente publicada para pacientes em hemodiálise no Estado de São Paulo, sudeste do Brasil [11]. Essa discrepância pode ser atribuída a diferenças na composição étnica dessas regiões ou a uma possível sub-amostragem do estudo realizado por Sesso e colaboradores [11] que usou como base de dados os registros do Ministério da Saúde (DATASUS). Diferenças epidemiológicas da ADPKD já foram descritas entre os alguns

grupos étnicos [16-18]. Por exemplo, uma baixa prevalência observada na Ásia, onde apenas 2,5-3,2% dos pacientes em diálise têm rins policísticos [12]. Além disso, dados epidemiológicos recentes de 90.778 pacientes com doença renal crônica terminal nos Estados Unidos revelam uma prevalência de ADPKD entre caucasóides de 6,1% e apenas 1,6% entre os pacientes negróides [19].

Nossos dados revelam semelhança na prevalência entre os sexos (47% homens e 53% mulheres, $P=0,15$), o que está de acordo com estudos epidemiológicos prévios [12,19]. Milutinovic e colaboradores [10] também não descrevem diferença entre os gêneros. Naquele estudo foram amostrados 140 pacientes norte-americanos selecionados a partir de arquivos de famílias com rins policísticos, onde 64 (46%) eram homens e 76 (54%) eram mulheres, ambos com mesma faixa etária. Em outro estudo brasileiro, que investigou pacientes atendidos em um hospital universitário, entretanto, foi observada uma alta prevalência de mulheres (63%) com rins policísticos [20].

O início da IRCT é comumente observado na terceira década de vida dos pacientes afetados por doenças renais diversas. Os pacientes avaliados nesse estudo apresentam idade média aproximada de 53 anos. Esse dado se assemelha aos dados descritos em outras populações. Por exemplo, um estudo publicado com dados da população japonesa [12], onde foram avaliados 3.699 pacientes em diálise, mostrou que 1976 pacientes eram homens com idade média 52 ± 11 anos e 1725 eram mulheres com idade média de 54 ± 10 anos. Se considerarmos a idade média de ingresso no tratamento dialítico, o valor aproximado que foi observado é de 46 anos e é bastante semelhante a outro estudo feito em pacientes brasileiros [20], onde a idade média observada ao início do tratamento foi de $45,4\pm 9,5$ anos.

A hematúria microscópica ou macroscópica também constitui um achado freqüente em pacientes com rins policísticos [18]. A hematúria macroscópica foi descrita por 4 (6%) pacientes com ADPKD e por 16 (1,9%) pacientes não-ADPKD. Entretanto, esses valores tangenciam a margem de significância ($P=0,06$).

Mais de 50% dos pacientes com ADPKD desenvolvem hipertensão em algum estágio da doença [2]. Essa comorbidade precede o desenvolvimento da insuficiência renal e constitui um fator de complicação na progressão da

doença renal [21-24]. No nosso estudo, observou-se uma prevalência de 49% e 62% de hipertensão entre os pacientes ADPKD e não-ADPKD, respectivamente. Esses dados não apresentam diferença significativa entre si e se assemelham a outro estudo feito recentemente em pacientes com ADPKD (63%) em outra amostra da população brasileira [20]. Por outro lado, dados da literatura indicam prevalências de até 80% de hipertensão nos pacientes com ADPKD em outras populações [10,17].

A litíase renal também é um achado freqüente nos pacientes com ADPKD [2]. Nos nossos pacientes a litíase renal foi descrita por 8 (11,9%) pacientes com ADPKD. Esse valor foi significativamente alto quando comparado ao grupo não-ADPKD, onde apenas 2,7% dos pacientes relataram litíase pregressa ($P=0,03$).

Em pacientes com rins policísticos a freqüência de aneurismas varia de 0 a 41% [2]. O distúrbio vascular mais grave é o desenvolvimento de aneurisma cerebral, que ocorre em menos de 5% dos pacientes [25]. Aneurismas localizados em outros vasos, aorta e coronárias, por exemplo, já foram descritos [26]. Nesse estudo aneurisma cerebral foi observado em apenas um (1,5%) paciente com ADPKD e em 4 (0,5%) pacientes não-ADPKD, de acordo com as informações disponíveis nos prontuários.

O desenvolvimento de cisto hepático é raro nos pacientes jovens com ADPKD, mas comum nos pacientes com mais de 50 anos [2]. As mulheres tendem a ter mais cistos hepáticos que os homens e os cistos aumentam em número e tamanho após a gestação [17]. Cistos no pâncreas e no baço também podem ser encontrados, porém são menos freqüentes [18]. Dentre os pacientes com rins policísticos avaliados nesse estudo, 11,9% apresentaram cistos hepáticos. Considerando que a média de idade dos pacientes foi de 54 anos, era esperado um número maior de pacientes com cistos hepáticos.

Em apenas dois pacientes foi observado divertículo colônico, sendo um deles com ADPKD. Em média 20% dos pacientes com rins policísticos apresentam divertículos colônicos. A idéia inicial para esse achado sugere que os divertículos resultam da pressão mecânica exercida na parede intestinal. Contudo, essa hipótese está sendo reavaliada após a descoberta de alguns mecanismos responsáveis por alterações moleculares do tecido conjuntivo,

semelhante ao que acontece nos cistos e aneurismas. Ishikawa e colaboradores [27] descrevem dilatação em ductos biliares de 40% dos pacientes com rins policísticos. Danaci e colaboradores [28] também descrevem cistos nas vesículas seminais (60%) e próstata (11%) em pacientes com ADPKD.

Outra característica comum nestes pacientes é a suscetibilidade a doenças infecciosas, especialmente a infecção do trato urinário (ITU). Nesse estudo, a história de ITU foi observada em 7,5% dos pacientes ADPKD e em 5,6% dos pacientes não-ADPKD.

Foram observadas diferenças significativas nos níveis de creatinina, potássio e fósforo nos pacientes com rins policísticos quando comparados aos pacientes do grupo não-ADPKD. Essas diferenças poderiam refletir a diversidade dos pacientes quanto à dieta, superfície corpórea ou massa muscular [17]. Entretanto, parecem não ter nenhum significado clínico e, provavelmente, resultam de uma variabilidade estatística.

A análise mutacional descritiva dos pacientes ADPKD revelou a existência de algumas alterações. Nenhuma das alterações de nucleotídeos encontrada caracteriza uma mutação nova. Do mesmo modo, não identificamos relação entre a posição e/ou quantidade de mutações e a evolução clínica dos pacientes. Mesmo assim, esse tipo de análise é importante, pois orienta novas investigações em outras regiões do gene, uma vez que das 32 amostras analisadas apenas 17 apresentaram mutações na região 3' do gene *PKD1*.

Dados epidemiológicos revelam que aproximadamente 91.000 pessoas possuem rins policísticos nos Estados Unidos, com uma incidência de 10.000 casos por ano [19]. Dados semelhantes não estão disponíveis para população brasileira. Contudo, se considerarmos um aumento de 100% na prevalência da doença renal entre 1994 e 2001 [29] poderemos estimar o número de pacientes brasileiros com rins policísticos. De fato, a população com insuficiência renal crônica terminal está estimada em aproximadamente 60.000 pacientes com uma incidência de 8% ao ano [29]. Desse modo, como descrevemos aqui que 7,5% em hemodiálise têm rins policísticos, pode-se estimar que existam entre 4.200 e 6.000 pacientes portadores de ADPKD no Brasil atualmente em hemodiálise.

Em resumo, os resultados obtidos nesse estudo indicam que a doença renal policística é prevalente entre os pacientes submetidos à hemodiálise no sul do Brasil. Paralelo a isso, o perfil clínico desses pacientes se mostrou bastante semelhante ao que já foi descrito para populações norte-americanas e européias, provavelmente pela semelhança na composição étnica da amostra que é predominantemente composta por descendentes europeus. Devido à variabilidade da população brasileira, mais estudos epidemiológicos de prevalência e incidência são necessários, além de dados sobre a evolução clínica e o perfil genético e molecular dos pacientes brasileiros.

AGRADECIMENTOS

Esse estudo foi financiado pelo CNPq (Ministério da Ciência e Tecnologia) FIFE (Hospital de Clínicas de Porto Alegre) e o primeiro autor recebeu uma bolsa de estudos da CAPES (Ministério da Educação). Agradecemos a todas as equipes médicas que atendem os pacientes descritos nesse estudo. Os autores agradecem especialmente os seguintes nefrologistas por permitirem as coletas de dados que iniciaram no ano de 2000: Sheila Thofehr, Claus Dummer, Homero Cunha e Agra, Fernando Thomé, Luis Felipe Gonçalves, Gisele Lobato, Cristina Kahrol, Francisco Veronese, Maria Cristina Giugliani, Roberto Manfro, José Morales, Darlan Lara, Osvaldo von Eye, José Alberto Marques, Lidia de Sá, Domingos D'Avila, João Bianchini, Arduino Zamo, Clotilde Garcia, Valter Garcia, Rafael Cauduro, Fabiane Fogaça, Alaor Duarte, Márcia Abichequer, Fernando dos Santos e Ana Maria dos Santos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kenneth I, Glassberg M. Renal dysplasia and cystic disease of the kidney. In: Campbell's urology, vol. 2, 7th edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1998.
2. Grantham J, Nair V, Winklhofer F. Cystic disease of the kidney. In: Brenner B. The kidney, vol. 2, 6th edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2000.
3. Hwang Y, Ahn C, Hwang D, *et al.* Clinical characteristics of end-stage renal disease in autosomal dominant polycystic kidney disease in Koreans. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11 (suppl): 392A.
4. Gabow P. Autosomal dominant polycystic kidney disease – more than a renal disease. *Am J Kidney Dis* 1990; 16(5): 403-13.
5. Grantham J. Mechanisms of progression in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 1997; 52(63): S93-S97.
6. Nunes ACF, Roisenberg I, Piccoli E *et al.* Adult polycystic kidney disease in patients on hemodialysis in the south of Brazil. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2686-7.
7. Grantham J. The etiology, pathogenesis and treatment of autosomal dominant polycystic kidney disease: recent advances. *Am J Kidney Dis* 1996; 28(6): 788-803.
8. Torra R, Badenas C, Darnell A *et al.* Autosomal dominant polycystic kidney disease with anticipation and Caroli's Disease associated with a *PKD1* mutation. *Kidney Int* 1997; 52: 33-8.
9. Dalgaard OZ, Søren N. Autosomal dominant polycystic kidney disease in the 1980s. *Clin Genet* 1989; 36: 320-5.
10. Milutinovic J, Fialkow P, Agodoa L *et al.* Clinical manifestations of autosomal dominant polycystic kidney disease in patients older than 50 years. *Am J Kidney Dis* 1990; 15(3): 237-43.
11. Sesso R, Anção MS, Madeira AS *et al.* Aspectos epidemiológicos do tratamento dialítico na grande São Paulo. *Rev Assoc Med Bras* 1994; 40(1): 10-14.

12. Higashira E, Nutahara K, Kojima M, *et al.* Prevalence and renal prognosis of diagnosed autosomal dominant polycystic kidney disease in Japan. *Nephron* 1998; 80: 421-7.
13. Sharp C, Johnson A, Gabow P. Factors relating to urinary protein excretion in children with autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1908-14.
14. Ravine D, Gibson RN, Walker RG *et al.* Evaluation of ultrasonographic diagnostic criteria for autosomal dominant polycystic kidney disease 1. *Lancet* 1994; 343:824-7.
15. Lahiri DK & Nurberger JI. A Rapid Non-enzymatic Method for the Preparation of HMW DNA from Blood for RFLPs Studies. *Nucleic Acids Res* 1991; 19: 5444.
16. Wilson PD. Polycystic kidney disease: new understanding in the pathogenesis. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 1868-73.
17. Fick-Brosnahan G. Polycystic and acquired cystic kidney disease. In: Greenberg A. *Primer on kidney disease*. 2nd edition, Academy Press, Toronto, 2001.
18. Gabow P. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 1993; 329 (5): 332-42.
19. U.S. Renal Data System, *USRDS 2005 Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States*, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2005. Disponível em <http://www.usrds.org/>
20. Romão E, Moysés Neto M, Teixeira SR *et al.* Renal and extrarenal manifestations of autosomal polycystic kidney disease. *Braz J Med Biol Res* 2006; 39: 533-8
21. Chapman A, Gabow P. Hypertension in Autosomal dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 1997; 52 (suppl.61): S71-S73.
22. Cerasola G, Vecchi M, Mulè G *et al.* Sympathetic activity and blood pressure pattern in autosomal dominant polycystic kidney disease hypertensives. *Am J Nephrol* 1998; 18: 391-8.
23. Kennefick T, Al-Nimri M, Oyama T *et al.* Hypertension and renal injury in experimental polycystic kidney disease. *Kidney Int* 1999; 56: 2181-90.

24. Valero F, Martinez-Vea A, Bardají A *et al.* Ambulatory blood pressure and left ventricular mass in normotensive patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1020-6.
25. Schievink W, Torres V, Wiebers D, Huston J. Intracranial arterial dolichoectasia in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1298-1303.
26. Hadimeri H, Lamm C, Nyberg G. Coronary aneurysms in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 837-41.
27. Ishikawa I, Chikamoto E, Nakamura M *et al.* High incidence of common bile duct dilatation in autosomal dominant polycystic kidney disease patients. *Am J Kidney Dis* 1996; 27(3): 321-6.
28. Danaci M, Akpolat T, Bastemir M *et al.* The prevalence of seminal vesicle cysts in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 2825-8.
29. Romão Jr JE. Doença Renal Crônica: definição, epidemiologia e classificação. Diretrizes Brasileiras de Doença Renal Crônica. *J Bras Nefrol* 2004; 26(3): 1-3.

Tabela 1: Dados demográficos da população estudada.

Característica	ADPKD (N=99)*	não-ADPKD (N=1227)*	Valor de P
Faixa etária média			
Idade (anos)	53,8 ± 11,0	53,2 ± 16,1	0,76
Idade ao diagnóstico (anos)	45,2 ± 16,6	47,3 ± 20,4	0,57
Gênero			
Masculino	52 (53%)	699 (57%)	0,43
Feminino	47 (47%)	528 (42%)	
Etnia			
Euro-descendentes	76 (77%)	906 (74%)	0,46
Afro-descendentes	23 (23%)	306 (25%)	
Descendentes asiáticos	0	15 (1%)	

Legenda (tabela 1):

*Número total de pacientes avaliados a partir dos registros médicos

Tabela 2: Patologias associadas e sinais clínicos identificados.

Distúrbio associado/ complicação clínica	ADPKD (N=74)*	não-ADPKD (N=901)*	Valor de P
Hipertensão**	33 (49,3%)	495 (57,4%)	0,10
Diabetes**	3 (4,4%)	192 (12,3%)	<0,001
Glomerulopatias**	0	93 (4,8%)	0,004
Macrohematúria**	4 (6,0%)	16 (1,9%)	0,06
Litíase renal**	8 (11,9%)	23 (2,7%)	0,03
Divertículo colônico**	1 (1,5%)	1 (0,1%)	0,90
Infecção do trato urinário**	5 (7,5%)	48 (5,6%)	0,95
Aneurisma cerebral***	1 (1,5%)	4 (0,5%)	0,72
Cistos hepáticos***	8 (11,9%)	0	0,03

Legenda (tabela 2):

* Número total de pacientes avaliados a partir dos registros médicos

** Informação existente antes do tratamento por hemodiálise

*** Diagnóstico por exame de imagem anterior ao tratamento por hemodiálise

Tabela 3: Valores médios de marcadores bioquímicos e hematológicos.

Marcadores bioquímicos ou hematológicos	ADPKD (N=47)*	não-ADPKD (N=585)*	Valor de P
Creatinina sérica (mg/dL)	10,6 ± 3,4	8,8 ± 3,0	<0,001
Fósforo sérico (mg/dL)	5,8 ± 11,7	5,1 ± 1,6	0,004
Potássio sérico (mEq/dL)	5,4 ± 0,8	5,1 ± 0,8	0,009
Cálcio sérico (mg/dL)	8,8 ± 1,1	8,6 ± 1,4	0,35
Albumina sérica (g/dL)	3,8 ± 0,9	3,6 ± 0,5	0,12
Globulina sérica (mg/dL)	2,8 ± 0,6	2,9 ± 0,6	0,60
Hemoglobina (mg/dL)	9,6 ± 1,9	9,4 ± 1,8	0,44
Hematócrito (%)	29,5 ± 6,8	29,2 ± 5,5	0,71
Uréia pré-diálise (mg/dL)	148,8 ± 39,5	144,9 ± 39,8	0,51
Uréia pós-diálise (mg/dL)	52,1 ± 18,9	49,6 ± 21,7	0,45

Legenda (tabela 3):

*Número total de pacientes avaliados a partir dos registros médicos

Tabela 4: Alterações nucleotídicas encontradas em pacientes com ADPKD.

Paciente	Sexo*	Quantidade**	Posição***	Alteração	
1	F	1	51742	Inserção	A
2	M	1	51834	Deleção	G-
3	F	2	51830	Transição	C-T
			51851	Transição	G-A
4	M	1	51846	Inserção	G+
5	M	1	51959	Inserção	G+
6	M	2	51832	Transversão	G-C
			51890	Transição	C-T
7	M	4	51880	Transição	G-A
			51882	Transição	C-T
			51883	Transversão	G-C
			51959	Inserção	G
8	M	1	51727	Transversão	C-A
9	F	1	51747	Transversão	C-G
10	F	3	51741	Inserção Inserção Inserção	G+
			51810		T+
			51958		G+
11	M	2	51739	Inserção Inserção	G+
			51962		T+
12	F	1	51855	Transição	A-G
13	M	3	51894	Deleção	A-
			51959	Transversão	A-T
			51960	Transversão	T-G
14	M	2	51743	Inserção Inserção	A+
			51759		G+
15	F	10	51757	Transversão Deleção Transversão Transição Transversão Inserção Transição Transição Transição Transversão	G-C
			51805		C-
			51823		A-C
			51852		C-T
			51862		A-C
			51871		C+
			51873		C-T
			51898		G-A
			51930		C-T
			51952		G-T
16	M	4	51757	Transversão Transição Deleção Deleção	G-C
			51838		A-G
			51841		A-
			51888		G-
17	M	3	51757	Transversão Transversão Deleção	G-C
			51837		A-C
			51844		A-

Legenda (tabela 4):

* F = sexo feminino / M = sexo masculino

** Número total alterações de nucleotídeos observadas no mesmo paciente

*** Posição do nucleotídeo mutado no gene *PKD1*

Prevalence, clinical and molecular profile of patients with polycystic kidney disease in South Brazil

Ane Cláudia Fernandes Nunes¹, Vagner Milani¹, Renato Moreira Rosa², Nicolas Carlos Hoch², Tiago Veiga Pereira³, Daiana Benck Porsch¹, Liana Bertolin Rossato¹, Cristiane Bastos Mattos¹, Israel Roisenberg⁴ e Elvino José Guardão Barros¹

1) Medical Science and Nephrology Postgraduate Program. Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, Brazil.

2) Biochemistry Postgraduated Program, Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, Brazil.

3) Laboratory of Genetics and Molecular Cardiology, Heart Institute (InCor). Department of Biochemistry, Escola Paulista de Medicina. Federal University of São Paulo. São Paulo/SP, Brazil.

4) Genetics and Molecular Biology Postgraduate Program. Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, Brazil.

Mailing:

Prof. Ane Nunes

Phone/Fax Number: + 55-21-3411-2214

Mobile Phone Number: +55-21-8776-7676

E-mail: ane.nunes@terra.com.br

Running Title: Polycystic kidney in Brazilian Patients

Words count only in text: 2,172

Key Words:

1. Polycystic kidney disease
2. Chronic kidney disease
3. *PKD1* gene
4. End-Stage Renal Disease

ABSTRACT

Background: Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD) is one of the most common genetic nephropathies. It affects one in every 800 individuals in the general population and from 5 to 10% in hemodialysis patients. Few data concerning the prevalence of ADPKD in Brazil are available. Thus, the aim of the present study was to investigate both the prevalence and clinical profile of ADPKD among hemodialysis patients in south of Brazil.

Methods: This prospective cross-sectional study consisted of patients from 24 hemodialysis centers during five years of investigation. Patients were screened for ADPKD by clinical, laboratorial and image examination in medical records.

Results: Of 1326 patients on hemodialysis in south of Brazil that composed this study, 99 (7.5%) had polycystic kidney as primary cause for chronic renal failure. Comparisons between ADPKD and non-ADPKD patients revealed no differences regarding mean age, gender and ethnicity. We identified 42 mutations in 3' region of *PKD1* gene among 17 ADPKD patients.

Conclusions: Our data revealed that ADPKD is prevalent among patients on hemodialysis in the south of Brazil. In addition, the clinical profile of ADPKD is similar to reported data from North America and Europe, putatively due to the similar ethnic composition mainly based on descents of Europeans. No new mutation was observed nor was an association found between molecular profile and clinical evolution in these patients.

INTRODUCTION

Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD) is one of the most frequent genetic diseases and an important cause of renal failure, It affects up to 10% of the patients on hemodialysis in Europe and in the United States [1,2] and about 3% of Asian patients [3]. This disease affects one in every 800-1000 individuals in the general population and is seen in one out of every 3000 hospital admissions [1,4,5]. A previous study showed a prevalence of 7.6% among hemodialysis patients in Porto Alegre alone, the capital city of Rio Grande do Sul State, in south of Brazil [6].

ADPKD is primarily caused by mutations in specific genes in chromosomes 16 (*PKD1*) and 4 (*PKD2*), which codify for polycystin-1 and -2, respectively, Polycystin proteins participate in basic cellular processes, such as proliferation, differentiation and molecule transportation [4]. Several types of mutations in *PKD1* and *PKD2* have been identified, causing an apparent reduction of the polycystin function and the development of several clinical symptoms associated with polycystic kidney disease [3,7,8].

The cysts are clinically detectable in the kidneys, liver, pancreas, but may also be seen in epithelial tissues. In addition, several clinical complications and comorbidities are described in patients with polycystic kidneys such as hematuria, proteinuria, hypertension, diverticulosis, urinary infections, renal lithiasis, and neoplasia [1,2,4-7]. Aneurysms in the cerebral arteries may also occur (5%), as well as vascular and/or cardiac abnormalities (26%) [5,9-13].

While epidemiological data on the prevalence of ADPKD have been extensively reported, mainly in United States and Europe. There are only few studies about the ADPKD epidemiology available in Brazil. Those studies show a prevalence that ranges from 3.3% to 7.6% among hemodialysis patients [6,11]. Thus, the objective of the present study was to investigate the prevalence, clinical and molecular profile of ADPKD in these patients from south of Brazil cities.

MATERIAL AND METHODS

- Study Population

This prospective cross-sectional study comprised all patients attended at 24 hemodialysis centers in south of Brazil (Rio Grande do Sul State). The study was conducted in 10 cities (Porto Alegre, Camaquã, Soledade, Santa Maria, Lajeado, Santa Cruz do Sul, Caxias do Sul, Passo Fundo, Novo Hamburgo and Canoas) by a search on medical records from December 2000 to December 2005,

The inclusion criteria were polycystic kidney family history and image diagnosis, as described by Ravine and colleagues [14]: patients younger than 30 years old should have no more than two cysts in one of the kidneys; 30 to 59 years old patients should have at least two cysts in each kidney; and patients older than 60 years old should have at least four cysts in each kidney.

Clinical information, according the medical history before dialysis treatment, also were analyzed as complementary data in these patients: macroscopic hematuria, renal lithiasis, urinary tract infections, hypertension, diverticulosis, hepatic cysts and aneurysm.

Several clinical parameters, measured during dialysis treatment, also were analyzed like complementary data: serum pre-dialysis urea, pos-dialysis urea, creatinine, calcium, potassium, phosphorus, albumin and globulin. Most recent available data for these variables were considered. The normal standards criteria for blood pressure were: systolic blood pressure <120 mmHg and diastolic blood pressure <90 mmHg.

This study was approved by the Ethics Committee of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (IRB number 00000921). The patients invited to participate were informed about the purposes of the study and individual informed consent was obtained from each subject.

- Molecular Analysis

To assure that ADPKD type '1' patients were selected, only patients with age of diagnosis average of 40 ± 5 years were analyzed. With that, DNA samples of 32 non-related individuals were obtained for descriptive mutational analysis among the identified ADPKD patients. The DNA samples of the patients were isolated from peripheral blood by salting out method [15]. The DNA samples attached by primers to the 3' region of PKD1 gene and were amplified by PCR. After PCR, the products were analyzed by MegaBACE 1000 (GE HealthCare), according to the Manufacturer's instructions. The results were analyzed by BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

- Statistical Analysis

Data are expressed as means \pm standard deviation (SD). Differences between ADPKD and non-ADPKD patients were compared by unpaired t-test for normally distributed variables and non-parametric Mann-Whitney test for variables with skewed distribution. Differences between proportions were assessed by χ^2 test with the Yates correction, as needed. Data analyses were performed using the SPSS 8,0 software package (Statistical Package for the Social Sciences - SPSS Inc, Chicago, IL) and STATA 7 (College Station, Texas). Statistical significance was established at 5%.

RESULTS

We evaluated 1,326 patients from 24 different dialysis centers. Among those, 99 (7,5%) presented a definitive diagnosis of ADPKD as a cause for ESRD; 74 presented clinical information available on their medical record; and 47 had biochemical data.

Regarding the average age of patients and their gender range, no relevant statistical differences were observed. The demographic data is summarized in Table 1.

The ethnic input was based on the patients' self-determination. The majority of patients analyzed are European descent (77%), and among those, 7.7% presented ADPKD diagnosis. The remainder of the sample consist of African descent (23%), and among them 6.9% carry ADPKD. The difference between the values of these two groups is not a statistically relevant. This is the first epidemiological data regarding ADPKD for Brazilian African descents. No other ethnic group was observed.

Altogether, several associated pathologies in ADPKD patients were observed. By far, the most common was hypertension, observed in 49% of patients with a diagnosis of polycystic kidney disease. Diabetes mellitus was found in only three patients with a diagnosis of polycystic kidneys.

Macroscopic hematuria is one of the signs of polycystic kidney disease [4]. This finding, however, was observed in only four (6%) of the patients with a diagnosis of polycystic kidneys, and in 16 (1.9%) of the control subjects. Renal lithiasis is frequently found in polycystic kidney patients. In our study, it was found in eight (12%) ADPKD patients, a number significantly higher than the 3.0% in the non-ADPKD group ($p=0.03$). The presence of urinary infection was similar in the two groups.

Hepatic cysts were found only in patients with polycystic kidneys, as expected [1]. Only one patient with polycystic kidneys had a diagnosis of cerebral aneurysm. Patient characteristics according to the associated pathologies are summarized in Table 2.

Serum creatinine, potassium and phosphorus levels were significantly higher in ADPKD. Laboratory findings showed higher creatinine, phosphorus and potassium values in patients with polycystic kidneys. Other variables, such as calcium, globulin, albumin, and pre- and post-dialysis urea were similar for the two groups. Laboratory parameters of hemodialysis patients are presented in Table 3.

Among the 32 patients selected for descriptive mutational analysis, only 17 showed changes at 3' region *PKD1* gene DNA sequence. In total were identified 42 mutations: 12 insertions, 6 deletions, 13 transversions and 11 transitions. Neither a new mutation was observed nor an association was found between molecular profile and clinical evolution in these patients. Alterations in the nucleotide sequences are

summarized in Table 4.

DISCUSSION

ADPKD is the best example of a monogenic cystic renal disease that leads to a polycystic kidney disease related phenotype [1,2] and it is an important cause of renal failure with 50% of all affected individuals developing end-stage renal disease (ESRD) [2, 16-18].

In this study, we evaluated the prevalence of patients with polycystic kidneys and ESRD in hemodialysis centers throughout the Southern Brazilian State of Rio Grande do Sul. We observed that ESRD was caused by polycystic kidneys in 7.5% of this patients.

Since most hemodialysis patients studied were European descents, our findings are consistent with previous reports from North America and Europe, where 8-10% of the patients on hemodialysis have a diagnosis of ADPKD. However, our results are in contrast with the 3.3% prevalence of ADPKD previously published for hemodialysis patients in São Paulo, southeast of Brazil [11]. This discrepancy might be attributable to differences in genetic background or to an underestimation of DPKD prevalence in Sesso and colleagues review [11] that used data from Brazilian Ministry of Health (DATASUS). In fact, considerable differences in ADPKD prevalence among ethnical groups are well described [17-19]. For example, a lower prevalence is found in Asia, where only 2.5% to 3,2% of the patients on dialysis have a diagnosis of polycystic kidneys [12]. In addition, recent epidemiological data on 90,778 end-stage renal disease patients from United States revealed a 6.1% prevalence of ADPKD in Caucasians, but only 1.6% in Black hemodialysis patients [20].

In our sample, no gender was overrepresented (47% men and 53% women, $P=0.15$) in accordance with previous epidemiological studies. Milutinovic and colleagues [10] also reported no difference between genders. In a sample of 140 US patients selected from a database of families with polycystic kidneys, 64 (46%) were men and 76 (54%) were women in the same age range. However, in a different

Brazilian study that investigated patients attended in a University Hospital, it was observed a higher prevalence of women (63%) with polycystic kidney [20].

The onset of ESRD is usually observed in the third decade in patients suffering from renal diseases. Our patients initiated dialysis at 54 ± 11 years in average. Similar data were reported in Japan [12], where from a sample of 3,699 patients on dialysis 1,976 were men with a mean age of 52 ± 11 years old and 1,725 were women with a mean age of 54 ± 10 years old. If we consider the average age at ESRD diagnosis, the value we observed was around 46 years, which is very similar to the value observed by a different study made with Brazilian patients [20] that observed an average age at ESRD of $45,4\pm 9,5$ years.

Microscopic or macroscopic hematuria is a frequent finding in patients with polycystic kidneys [18]. We found a trend towards a higher prevalence of macroscopic hematuria, 6% versus 1.9% in ADPKD and controls, respectively ($P=0.006$).

Hypertension develops in more than 50% of ADPKD patients some time in course of disease [2]. It often precedes the development of renal failure, and further becomes a complicating factor for progression of renal disease [21-24]. We found a hypertension prevalence of 49% and 62% in ADPKD and non-ADPKD patients, respectively. These data show no difference within them and are very alike to another study recently made with ADPKD (63%) Brazilian patients [20]. Previous reports indicate prevalence up to 80% of hypertension in ADPKD subjects in others populations [10,17].

Renal lithiasis is also a frequent finding in ADPKD patients [2]. In our sample, was observed in eight (11.9%) patients with ADPKD. This number is significantly higher than the number for the non-ADPKD, in which only 2.7% of the patients had lithiasis ($P=0.03$).

Aneurysm frequency ranges from 0 to 41% in patients with polycystic kidneys [2]. The most severe vascular disorder is the development of cerebral aneurysm, which occurs in less than 5% of the patients [25]. Aneurysms in other locations such as in coronary vessels and in the aorta have also been reported [26]. We found a cerebral aneurysm in only one (1.5%) of the ADPKD patients and in 4 (0.5%) of the non-ADPKD

patients, according available medical records.

The development of hepatic cysts in ADPKD is rare in young patients, but common in patients older than 50 years old [2]. Women have more hepatic cysts than men, and cysts often increase in number and size after gestation [17]. Cysts in pancreas and spleen may also be found, albeit less frequent [18]. We found hepatic cysts in 11,9% of the patients with polycystic kidneys. Since patient mean age was 54 years, it is expected a larger number of patients with hepatic cysts.

Colonic diverticula were observed in only one ADPKD patient and one patient in the non-ADPKD group. About 20% of the patients with polycystic kidneys have colonic diverticula. The initial hypothesis that colonic diverticula appeared only as a result of mechanical pressure exerted on the intestinal wall has been changed since the discovery of mechanisms responsible for molecular changes in connective tissues, similar to those found in cysts and aneurysms. Ishikawa and colleagues [27] reported dilation of bile ducts in 40% of patients with polycystic kidneys. Danaci and colleagues [28] also reported cysts in seminal vesicles (60%) and prostate (11%).

Other common characteristic of patients on dialysis is the greater susceptibility to infectious diseases, especially urinary tract infections. In this study, we observed urinary tract infections in 7,5% of the ADPKD patients and in 5,6% of the patients in non-ADPKD group.

We observed significantly higher creatinine, potassium and phosphorus levels in patients with polycystic kidneys when compared with non-ADPKD patients. These differences may be explained by changes in patient diet, body surface area or muscle mass [17]. However, this difference probably reflects a statistical variation alone.

The descriptive mutational analysis of ADPKD patients showed some alterations. None of the alterations found characterized a 'new mutation'. Similarly, no relationship between position and/or number of mutation and clinical evolution was observed. Even so, this analysis is important because it can give guidelines for new investigations in others regions of *PKD1* gene, once 17 out of 32 analyzed samples presented mutations in the 3' region of *PKD1* gene.

Epidemiological data reveal that about 91,000 people have polycystic kidneys in United States, with an incidence of 10,000 cases per year [19]. Similar epidemiological data are not available in Brazil. However, it was observed a 100% increase in the prevalence of renal disease between 1994 and 2001 [29]. In fact, population with ESRD on hemodialysis was estimated at 59,153 patients with an incidence of 8% per year [29]. As we found a prevalence of ADPKD of 7.5%, at least 4,200 to 6,000 patients with adult polycystic kidney disease are expected in Brazil.

In summary, the results of this study suggest that ADPKD is prevalent among patients on hemodialysis in the south of Brazil. In addition, the clinical profile of ADPKD seems to be similar to the reported data from North America and Europe, probably because ethnical constitution of our sample is predominantly of European descents. Because variability of Brazilian population is large, more epidemiologic studies with prevalent and incident patients describing their clinical evolution and genetic and molecular profile are needed.

ACKNOWLEDGMENT

This study was supported by CNPq (Ministry of Science and Technology), FIPE (Hospital de Clínicas de Porto Alegre) and the first author received a grant from CAPES (Ministry of Education), We would like to thank nursing and medical staffs who attended patients included in this study, The authors are deeply grateful for the collaboration of the following nephrologists throughout the sample collection that begun in the year 2000: Sheila Thofehr, Claus Dummer, Homero Cunha e Agra, Fernando Thomé, Luis Felipe Gonçalves, Gisele Lobato, Cristina Kahrol, Francisco Veronese, Maria Cristina Giugliani, Roberto Manfro, José Morales, Darlan Lara, Osvaldo von Eye, José Alberto Marques, Lidia de Sá, Domingos D'Avila, João Bianchini, Arduino Zamo, Clotilde Garcia, Valter Garcia, Rafael Cauduro, Fabiane Fogaça, Alaor Duarte, Márcia Abichequer, Fernando dos Santos and Ana Maria dos Santos,

REFERENCES

1. Kenneth I, Glassberg M. Renal dysplasia and cystic disease of the kidney. In: Campbell's urology, vol. 2, 7th edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1998.
2. Grantham J, Nair V, Winklhofer F. Cystic disease of the kidney. In: Brenner B. The kidney, vol. 2, 6th edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2000.
3. Hwang Y, Ahn C, Hwang D, *et al.* Clinical characteristics of end-stage renal disease in autosomal dominant polycystic kidney disease in Koreans. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11 (suppl): 392A.
4. Gabow P. Autosomal dominant polycystic kidney disease – more than a renal disease. *Am J Kidney Dis* 1990; 16(5): 403-13.
5. Grantham J. Mechanisms of progression in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 1997; 52(63): S93-S97.
6. Nunes ACF, Roisenberg I, Piccoli E *et al.* Adult polycystic kidney disease in patients on hemodialysis in the south of Brazil. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2686-7.
7. Grantham J. The etiology, pathogenesis and treatment of autosomal dominant polycystic kidney disease: recent advances. *Am J Kidney Dis* 1996; 28(6): 788-803.
8. Torra R, Badenas C, Darnell A *et al.* Autosomal dominant polycystic kidney disease with anticipation and Caroli's Disease associated with a *PKD1* mutation. *Kidney Int* 1997; 52: 33-8.
9. Dalgaard OZ, Søren N. Autosomal dominant polycystic kidney disease in the 1980s. *Clin Genet* 1989; 36: 320-5.
10. Milutinovic J, Fialkow P, Agodoa L *et al.* Clinical manifestations of autosomal dominant polycystic kidney disease in patients older than 50 years. *Am J Kidney Dis* 1990; 15(3): 237-43.
11. Sesso R, Anção MS, Madeira AS *et al.* Aspectos epidemiológicos do tratamento dialítico na grande São Paulo. *Rev Assoc Med Bras* 1994; 40(1): 10-14.

12. Higashira E, Nutahara K, Kojima M, *et al.* Prevalence and renal prognosis of diagnosed autosomal dominant polycystic kidney disease in Japan. *Nephron* 1998; 80: 421-7.
13. Sharp C, Johnson A, Gabow P. Factors relating to urinary protein excretion in children with autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1908-14.
14. Ravine D, Gibson RN, Walker RG *et al.* Evaluation of ultrasonographic diagnostic criteria for autosomal dominant polycystic kidney disease 1. *Lancet* 1994; 343:824-7.
15. Lahiri DK & Nuerberger JI. A Rapid Non-enzymatic Method for the Preparation of HMW DNA from Blood for RFLPs Studies. *Nucleic Acids Res* 1991; 19: 5444.
16. Wilson PD. Polycystic kidney disease: new understanding in the pathogenesis. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 1868-73.
17. Fick-Brosnahan G. Polycystic and acquired cystic kidney disease. In: Greenberg A. *Primer on kidney disease*. 2nd edition, Academy Press, Toronto, 2001.
18. Gabow P. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 1993; 329 (5): 332-42.
19. U.S. Renal Data System, *USRDS 2005 Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States*, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2005. Disponível em <http://www.usrds.org/>
20. Romão E, Moysés Neto M, Teixeira SR *et al.* Renal and extrarenal manifestations of autosomal polycystic kidney disease. *Braz J Med Biol Res* 2006; 39: 533-8
21. Chapman A, Gabow P. Hypertension in Autosomal dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 1997; 52 (suppl.61): S71-S73.
22. Cerasola G, Vecchi M, Mulè G *et al.* Sympathetic activity and blood pressure pattern in autosomal dominant polycystic kidney disease hypertensives. *Am J Nephrol* 1998; 18: 391-8.

23. Kennefick T, Al-Nimri M, Oyama T *et al.* Hypertension and renal injury in experimental polycystic kidney disease. *Kidney Int* 1999; 56: 2181-90.
24. Valero F, Martinez-Vea A, Bardají A *et al.* Ambulatory blood pressure and left ventricular mass in normotensive patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1020-6.
25. Schievink W, Torres V, Wiebers D, Huston J. Intracranial arterial dolichoectasia in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1298-1303.
26. Hadimeri H, Lamm C, Nyberg G. Coronary aneurysms in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 837-41.
27. Ishikawa I, Chikamoto E, Nakamura M *et al.* High incidence of common bile duct dilatation in autosomal dominant polycystic kidney disease patients. *Am J Kidney Dis* 1996; 27(3): 321-6.
28. Danaci M, Akpolat T, Bastemir M *et al.* The prevalence of seminal vesicle cysts in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 2825-8.
29. Romão Jr JE. Doença Renal Crônica: definição, epidemiologia e classificação. *Diretrizes Brasileiras de Doença Renal Crônica. J Bras Nefrol* 2004; 26(3): 1-3.

Table 1: Demographics characteristics of the sample.

Characteristic	ADPKD (N=99)*	non-ADPKD (N=1227)*	P value
Age range			
Age (years)	53.8 ± 11.0	53.2 ± 16.1	0.76
Age at ESRD (years)	45.2 ± 16.6	47.3 ± 20.4	0.57
Gender			
Male	52 (53%)	699 (57%)	0.43
Female	47 (47%)	528 (42%)	
Ethnicity			
European descent	76 (77%)	906 (74%)	0.46
African descent	23 (23%)	306 (25%)	
Asian descent	0	15 (1%)	

Table 1 legend:

* Number of patients with this variable available in medical records

Table 2: Pathologies associated and common clinical signs in ADPKD and non-ADPKD patients.

Associated Disorder/ Clinical complication	ADPKD (N=74)*	non-ADPKD (N=901)*	P value
Hypertension**	33 (49.3%)	495 (57.4%)	0.10
Diabetes**	3 (4.4%)	192 (12.3%)	<0.001
Glomerulopathies**	0	93 (4.8%)	0.004
Macroscopic hematuria**	4 (6.0%)	16 (1.9%)	0.06
Renal lithiasis**	8 (11.9%)	23 (2.7%)	0.03
Colonic diverticulum**	1 (1.5%)	1(0.1%)	0.90
Cerebral aneurysm**	1 (1.5%)	4 (0.5%)	0.72
Hepatic cysts***	8 (11.9%)	0	0.03
Urinary tract infection***	5 (7.5%)	48 (5.6%)	0.95

Table 2 legend:

* Number of patients with this variable available in medical records

** Information available prior to hemodialysis treatment

*** Image diagnosis prior to hemodialysis treatment

Table 3: Mean values of biochemical and hematological markers on hemodialysis ADPKD and non-ADPKD patients.

Biochemical or Hematological Marker	ADPKD (N=47)*	non-ADPKD (N=585)*	P value
Serum creatinine (mg/dL)	10.6 ± 3.4	8.8 ± 3.0	<0.001
Serum phosphorus (mg/dL)	5.8 ± 11.7	5.1 ± 1.6	0.004
Serum potassium (mEq/dL)	5.4 ± 0.8	5.1 ± 0.8	0.009
Serum calcium (mg/dL)	8.8 ± 1.1	8.6 ± 1.4	0.35
Serum albumin (g/dL)	3.8 ± 0.9	3.6 ± 0.5	0.12
Serum globulin (mg/dL)	2.8 ± 0.6	2.9 ± 0.6	0.60
Hemoglobin (mg/dL)	9.6 ± 1.9	9.4 ± 1.8	0.44
Hematocrit (%)	29.5 ± 6.8	29.2 ± 5.5	0.71
Pre-dialysis urea (mg/dL)	148.8 ± 39.5	144.9 ± 39.8	0.51
Post-dialysis urea (mg/dL)	52.1 ± 18.9	49.6 ± 21.7	0.45

Table 3 legend:

* Number of patients with this variable available in medical records

Table 4: Alterations in 3' region of *PKD1* gene in ADPKD patients.

Patient	Gender ¹	Number ²	Position ³	Nucleotide Alteration	
1	F	1	51742	Insertion	A
2	M	1	51834	Deletion	G-
3	F	2	51830	Transition	C-T
			51851	Transition	G-A
4	M	1	51846	Insertion	G+
5	M	1	51959	Insertion	G+
6	M	2	51832	Transversion	G-C
			51890	Transition	C-T
7	M	4	51880	Transition	G-A
			51882	Transition	C-T
			51883	Transversion	G-C
			51959	Insertion	G
8	M	1	51727	Transversion	C-A
9	F	1	51747	Transversion	C-G
10	F	3	51741	Insertion	G+
			51810	Insertion	T+
			51958	Insertion	G+
11	M	2	51739	Insertion	G+
			51962	Insertion	T+
12	F	1	51855	Transition	A-G
13	M	3	51894	Deletion	A- A-
			51959	Transversion	T T-
			51960	Transversion	G
14	M	2	51743	Insertion	A+
			51759	Insertion	G+
15	F	10	51757	Transversion	G-C
			51805	Deletion	C- A-
			51823	Transversion	C C-
			51852	Transition	T A-
			51862	Transversion	C C+
			51871	Insertion	C-T
			51873	Transition	G-A
			51898	Transition	C-T
			51930	Transition	C-T
			51952	Transversion	G-T
16	M	4	51757	Transversion	G-C
			51838	Transition	A-G
			51841	Deletion	A- G-
			51888	Deletion	A- G-
17	M	3	51757	Transversion	G-C
			51837	Transversion	A-C
			51844	Deletion	A-

Table 4 legend:

1) F = female / M = male

2) Total number of alterations observed in the same patient

3) Position of mutant nucleotide in *PKD1* gene

ANEXO

A

TERMO DE CONSENTIMENTO

**Consentimento esclarecido e informado: aprovado pelo Comitê
de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre**

Termo de Consentimento

O Grupo de Estudos em Nefrogenética (GEN) está realizando um projeto de pesquisa sobre doenças renais hereditárias. O objetivo é montar um banco de dados sobre as características genéticas associadas a estas doenças.

O estudo também pretende avaliar a relação entre outras doenças que possam estar associadas à evolução dessas nefropatias, como a hipertensão, o diabetes e a insuficiência renal crônica sem causa definida.

O procedimento referente ao estudo que envolve uma breve entrevista, a análise de meu prontuário e a retirada de duas amostras de sangue, sendo 5,0 mL em cada uma e uma amostra de 03 (três) gotas de sangue em papel filtro. Fui informado que a coleta de sangue pode ser acompanhada de alguma dor e que a quantidade de sangue retirada não traz prejuízo a minha saúde.

O material coletado será armazenado sob a forma de soro e/ou DNA. A participação neste trabalho é voluntária e poderá não trazer benefícios para você, mas sim para o conhecimento de alterações que possam ocorrer relacionadas ao estudo das doenças renais. Os dados referentes ao estudo são confidenciais, podendo ser acessados pelo seu médico e pelo senhor(a), conforme sua vontade.

() Gostaria de saber os resultados dos exames realizados.

() Não gostaria de saber os resultados dos exames realizados.

A não concordância em participar deste estudo não trará qualquer prejuízo ao seu atendimento. Qualquer dúvida referente ao estudo será esclarecida pelos responsáveis por este projeto, Elvino Barros e Ane Nunes.

Por esse instrumento, tomo parte, voluntariamente, do presente estudo.

Assinatura do paciente

Nome do paciente:

Local:

Data: / /

Responsável pela coleta:

• Este "Termo de Consentimento" foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e contempla os projetos 00194, 03491, 04148, 04149 e 04150.

Pesquisadores Responsáveis

Prof. Elvino Barros
ebarros@hcpa.ufrgs.br

Profa. Ane Nunes
ane.nunes@terra.com.br

Hospital de Clínicas de Porto Alegre – Serviço de Nefrologia
Fone (51) 2101-8295 / Fax: (51) 2101-8121

ACFN/04

ANEXO

B

RESOLUÇÕES DO COMITÊ DE ÉTICA

Resolução 00194 – referente ao período de 2000-2003

Resolução 04148 – referente ao período de 2004-2006

GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE

RESOLUÇÃO

As Comissões Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela CONEP como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA, reanalisaram o projeto:

Número: 00. 194

Título: " ESTUDO DA DOENÇA RENAL POLICÍSTICA DO ADULTO EM PORTO ALEGRE."

Autores: Elvino José Guardão Barros, Ane C. Nunes e Israel Roisenberg.

- O mesmo foi aprovado, por estar adequado ética e metodologicamente, inclusive quanto ao seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo Seres Humanos (Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde) e as Resoluções Normativas do GPPG/HCPA. **Os autores deverão encaminhar relatórios semestrais sobre o andamento do Projeto.**

Porto Alegre, 28 de Agosto de 2000.


Prof.ª Themis Reverbel da Silveira
Coordenadora do GPPG e CEP/HCPA



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação

COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE

A Comissão Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB0000921) analisaram o projeto:

Projeto: 04-148

Versão do Projeto: 24/09/2004

Versão do TCLE: 23/11/2004

Pesquisadores:

ELVINO BARROS

VAGNER MILANI

LIANA BERTOLIN ROSSATO

ANES NUNES

Título: MARCADORES MOLECULARES APLICADOS AO ESTUDO DA DOENÇA RENAL POLICÍSTICA DO ADULTO EM PACIENTES SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE NO RIO GRANDE DO SUL: PREVALÊNCIA, DIAGNÓTICO E PROGNÓSTICO.

- Este projeto foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos, inclusive quanto ao seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Os membros do CEP/HCPA não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente ao CEP/HCPA. Somente poderão ser utilizados os Termos de Consentimento onde conste a aprovação do GPPG/HCPA.

- De acordo com a regulamentação da Resolução 340/2004 do CNS/MS o CEP/HCPA foi credenciado, através da Carta Circular Nº 037 CONEP/CNS/MS de 11 de agosto de 2004, para dar aprovação final para este projeto.

Porto Alegre, 14 de dezembro de 2004.

Profª Nadine Oliveira Clausell
Coordenadora do GPPG e CEP-HCPA

REFERÊNCIAS



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Trabalhos consultados na elaboração desse estudo

- AL-BHALAL L, AKHTAR M. Molecular basis of autosomal dominant polycystic kidney disease. **Advances in Anatomic Pathology** 12(3):126-33, **2005**.
- ARIYUREK Y, LANTINGA-VAN LEEUWEN I, SPRUIT L, RAVINE D, BREUNING MH, PETERS DJ. Large deletions in the polycystic kidney disease 1 (*PKD1*) gene. **Human Mutation** 23(1):99-106, **2004**.
- ARNOULD T, SELLIN L, BENZING T, TSIOKAS L, COHEN HT, KIM E, WALZ G. Cellular activation triggered by the autosomal dominant polycystic kidney disease gene product *PKD2*. **Molecular and Cellular Biology** 19(5):3423-34, **1999**.
- BABICH V, ZENG WZ, YEH BI, IBRAGHIMOV-BESKROVNAYA O, CAI Y, SOMLO S, HUANG CL. The N-terminal extracellular domain is required for polycystin-1-dependent channel activity. **The Journal of Biological Chemistry** 279(24):25582-9, **2004**.
- BACHNER L, VINET MC, LACAVE R, BABRON MC, RONDEAU E, SRAER JD, CHEVET D, KAPLAN JC. Linkage study of a large family with autosomal dominant polycystic kidney disease with reduced expression, absence of linkage to the *PKD1* locus. **Human Genetics** 85(2):221-7, **1990**.
- BACOLLA A, JAWORSKI A, CONNORS TD, WELLS RD. *PKD1* unusual DNA conformations are recognized by nucleotide excision repair. **The Journal of Biological Chemistry** 276(21):18597-604, **2001**.
- BADENAS C, TORRA R, SAN MILLÁN JL, MILÃ M, ESTIVILL X, DARNEL A. Mutational Analysis within the 3' Region of the *PKD1* Gene. **Kidney International** 55(4):1225-33, **1999**.
- BELIBI FA, WALLACE DP, YAMAGUCHI T, CHRISTENSEN M, REIF G, GRANTHAM JJ. The effect of caffeine on renal epithelial cells from patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. **Journal of the American Society of Nephrology** 13(11):2723-9, **2002**.
- BELIBI FA, REIF G, WALLACE DP, YAMAGUCHI T, OLSEN L, LI H, HELMKAMP GM JR, GRANTHAM JJ. Cyclic AMP promotes growth and secretion in human polycystic kidney epithelial cells. **Kidney International** 66(3):964-73, **2004**.
- BERGMANN C, SENDEREK J, SEDLACEK B, PEGIAZOGLOU I, PUGLIA P, EGGERMANN T, RUDNIK-SCHONEBORN S, FURU L, ONUCHIC LF, de BACA M, GERMINO GG, GUAY-WOODFORD L, SOMLO S, MOSER M, BUTTNER R, ZERRES K. Spectrum of mutations in the gene for autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD/PKHD1). **Journal of the American Society of Nephrology** 14(1):76-89, **2003**.
- BLASZAK RT, POTAMAN V, SINDEN RR, BISSLER JJ. DNA structural transitions within the *PKD1* gene. **Nucleic Acids Research** 27(13):2610-7, **1999**.

- BLYTH H, OCKENDEN BG. Polycystic disease of kidney and liver presenting in childhood. **Journal of Medical Genetics** 8(3):257-84, **1971**.
- BOGDANOVA N, DWORNICZAK B, DRAGOVA D, TODOROV V, DIMITRAKOV D, KALINOV K, HALLMAYER J, HORST J, KALAYDJIEVA L. Genetic heterogeneity of polycystic kidney disease in Bulgaria. **Human Genetic** 95(6):645-50, **1995**.
- BOULTER C, MULROY S, WEBB S, FLEMING S, BRINDLE K, SANDFORD R. Cardiovascular, skeletal, and renal defects in mice with a targeted disruption of the *PKD1* gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 98(21):12174-9, **2001**.
- BRASIER JL, HENSKE EP. Loss of the polycystic kidney disease (PKD1) region of chromosome 16p13 in renal cyst cells supports a loss-of-function model for cyst pathogenesis. **The Journal of Clinical Investigation** 99(2):194-9, **1997**.
- BREUNING MH, SNIJDEWINT FG, BRUNNER H, VERWEST A, IJDO JW, SARIS JJ, DAUWERKSE JG, BLONDEN L, KEITH T, CALLEN DF, HYLAND, VJ, XIAO GH, SCHERER D, HIGGD DR, HARRIS P, BACHNER L, REEDERS ST, GERMINO G, PEARSON PL, van OMMEN GJB. Map of 16 polymorphic loci on the short arm of chromosome 16 close to the polycystic kidney disease gene (*PKD1*). **Journal of Medical Genetics** 27(10):603-13, **1990a**.
- BREUNING MH, SNIJDEWINT FGM, DAUWERSE JG, SARIS JJ, BAKKER E, PEARSON PL, van OMMEN GJB. Two Step Procedure for Early Diagnosis of Polycystic Kidney Disease with Polymorphic DNA Markers on Both Sides of the Gene. **Journal of Medical Genetics** 27:614-17, **1990b**.
- CAI S, EVERITT JI, KUGO H, COOK J, KLEYMENOVA E, WALKER CL. Polycystic kidney disease as a result of loss of the tuberous sclerosis 2 tumor suppressor gene during development. **The American Journal of Pathology** 162(2):457-68, **2003**.
- CANDIANO G, GUSMANO R, ALTIERI P, BERTELLI R, GINEVRI F, COVIELLO DA, SESSA A, CARIDI G, GHIGGERI GM. Extracellular matrix formation by epithelial cells from human polycystic kidney cysts in culture. **Virchows Archives B Cell Pathology** 63:1-9, **1992**.
- CHAUVET V, TIAN X, HUSSON H, GRIMM DH, WANG T, HIESBERGER T, IGARASHI P, BENNETT AM, IBRAGHIMOV-BESKROVNAYA O, SOMLO S, CAPLAN MJ. Mechanical stimuli induce cleavage and nuclear translocation of the polycystin-1 C terminus. **Journal of Clinical Investigation** 114:1433-43, **2004**.
- CHEN XZ, VASSILEV PM, BASORA N, PENG JB, NOMURA H, SEGAL Y, BROWN EM, REEDERS ST, HEDIGER MA, ZHOU J. Polycystin-L is a calcium-regulated cation channel permeable to calcium ions. **Nature** 401(6751):383-6, **1999**.

- CONSTANTINIDES R, XENOPHONTOS S, NEOPHYTOU P, NOMURA S, PIERIDES A, DELTAS CC. New amino acid polymorphism, Ala/Val4058, in exon 45 of the polycystic kidney disease 1 gene: evolution of alleles. **Human Genetics** 99(5):644-7, **1997**.
- COTO E, CASTRO S, AGUADO S, ALVAREZ J, ARIAS M, MENÉNDEZ M, LÓPEZ-LARREA C. DNA Microsatellite Analysis of Families with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease Types 1 and 2: Evaluation of Clinical Heterogeneity Between Both Forms of the Disease. **Journal of Medical Genetics** 32:442-45, **1995**.
- COTTON CU, AVNER ED. PKD and CF: an interesting family provides insight into the molecular pathophysiology of polycystic kidney disease. **American Journal of Kidney Diseases** 32(6):1081-3, **1998**.
- DALGAARD OZ, SØREN N. Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease in the 1980's. **Clinical Genetics** 36:320-25, **1989**.
- DALGAARD OZ. Bilateral polycystic disease of the kidneys: A follow-up of two hundred and eighty-four patients and their families. **Acta Medica Scandinavia** 158(suppl 328):1-255, **1957**.
- DANIELLS C, MAHESHWAR M, LAZAROU L, DAVIES F, COLES G, RAVINE D. Novel and Recurrent Mutations in the *PKD1* (Polycystic Kidney Disease) Gene. **Human Genetics** 102(2):216-20, **1998**.
- DAOUST MC, REYNOLDS DM, BICHET DG, SOMLO S. Evidence for a third genetic locus for autosomal dominant polycystic kidney disease. **Genomics** 25(3):733-6, **1995**.
- DE ALMEIDA S, DE ALMEIDA E, PETERS D, PINTO JR, TAVORA I, LAVINHA J, BREUNING M, PRATA MM. Autosomal dominant polycystic kidney disease: evidence for the existence of a third locus in a Portuguese family. **Human Genetic** 96(1):83-8, **1995**.
- DELMAS P, PADILLA F, OSORIO N, COSTE B, RAOUX M, CREST M. Polycystins, calcium signaling, and human diseases. **Biochemical and Biophysical Research Communication** 322:1374-83, **2004**.
- DELMAS P. Polycystins: Polymodal receptor/ions-channel cellular sensors. **European Journal of Physiology** 451:264-76, **2005**.
- ELLES RG, READ AP, HODGKINSON KA, WATTERS A, HARRIS P. Recombination or Heterogeneity: Is There a Second Locus for Adult Polycystic Kidney Disease? **Journal of Medical Genetics** 27:413-17, **1990**.
- EVAN AP e McATEER. Cyst cells and cyst walls. In: The Cystic Kidney, Gardner KG e Bernstein J ed. **Kluwer Academic Publishers**, London, pp 21-41, **1992**.

- FAIN PR, MCFANN KK, TAYLOR MR, TISON M, JOHNSON AM, REED B, SCHRIER RW. Modifier genes play a significant role in the phenotypic expression of *PKD1*. **Kidney International** 67(4):1256-67, **2005**.
- FICK GM, JOHNSON AM, GABOW PA. Is there evidence for anticipation in autosomal-dominant polycystic kidney disease? **Kidney International** 45(4):1153-62, **1994**.
- FICK GM, JOHNSON AM, STRAIN JD, KIMBERLING WJ, KUMAR S, MANCO-JOHNSON ML, DULEY IT, GABOW PA. Characteristics of very early onset autosomal dominant polycystic kidney disease. **Journal of the American Society of Nephrology** 3(12):1863-70, **1993**.
- FICK-BROSNAHAN GM. Polycystic and Acquired Cystic Diseases. In: GREENBERG, A. Primer on Kidney Disease, 3rd edition. **Academy Press**, Toronto, **2001**.
- FOGGENSTEINER L, BEVAN AP, THOMAS R, COLEMAN N, BOULTER C, BRADLEY J, IBRAGHIMOV-BESKROVNAYA O, KLINGER K, SANDFORD R. Cellular and subcellular distribution of polycystin-2, the protein product of the *PKD2* gene. **Journal of the American Society of Nephrology** 11(5):814-27, **2000**.
- FOSSDAL R, BOTHVARSSON M, ASMUNDSSON P, RAGNARSSON J, PETERS D, BREUNING MH, JENSSON O. Icelandic families with autosomal dominant polycystic kidney disease: families unlinked to chromosome 16p13.3 revealed by linkage analysis. **Human Genetics** 91(6):609-13, **1993**.
- FUCHSHUBER A, DELTAS CC, BERTHOLD S, STAVROU C, VOLLMER M, BURTON C, FEEST T, KRIETER D, GAL A, BRANDIS M, PIERIDES A, HILDEBRANDT F. Autosomal dominant medullary cystic kidney disease: evidence of gene locus heterogeneity. **Nephrology Dialysis Transplantation** 13(8):1955-7, **1998**.
- GABOW, PA. Autosomal dominant polycystic kidney disease – More than a renal disease. **American Journal of Kidney Diseases** 14(5):403-13, **1990**.
- GABOW PA. Autosomal dominant polycystic kidney disease. **The New England Journal of Medicine** 329:332-42, **1993**.
- GABOW PA, GRANTHAM JJ. Polycystic Kidney Disease. In: SCHRIER RW, GOTTSCHALK CW, editors, Disease of the kidney. **Little Brown and Company**, Boston, pp 521-60, **1997**.
- GAL A, WIRTH B, KAARIAINEN H, LUCOTTE G, LANDAIS P, GILLESSEN-KAESBACH G, MULLER-WIEFEL DE, ZERRES K. Childhood manifestation of autosomal dominant polycystic kidney disease: no evidence for genetic heterogeneity. **Clinical Genetics** 35(1):13-9, **1989**.
- GALLAGHER AR, CEDZICH A, GRETZ N, SOMLO S, WITZGALL R. The polycystic kidney disease protein *PKD2* interacts with Hax-1, a protein

associated with the actin cytoskeleton. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 97(8):4017-22, 2000.

GATTONE VH, RICKER JL, TRAMBAUGH CM, KLEIN RM. Multiorgan mRNA misexpression in murine autosomal recessive polycystic kidney disease. **Kidney International** 62(5):1560-9, 2002.

GENG L, SEGAL Y, PEISSEL B, DENG N, PEI Y, CARONE F, RENNKE HG, GLUCKSMANN-KUIS AM, SCHNEIDER MC, ERICSSON M, REEDERS ST, ZHOU J. Identification and localization of polycystin, the PKD1 gene product. **The Journal of Clinical Investigation** 98(12):2674-82, 1996.

GILLESPIE GA, SOMLO S, GERMINO GG, WEINSTAT-SASLOW D, REEDERS ST. CpG island in the region of an autosomal dominant polycystic kidney disease locus defines the 5' end of a gene encoding a putative proton channel. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 88(10):4289-93, 1991.

GLASSBERG KI. Renal dysplasia and cystic disease of the kidney. In: Campbell's Urology, 7th edition, Vol, 2, **W,B Saunders Company**, Philadelphia, pp1757-1813, 1998.

GOGUSEV J, MURAKAMI I, DOUSSAU M, TELVI L, STOJKOSKI A, LESAVRE P, DROZ D. Molecular cytogenetic aberrations in autosomal dominant polycystic kidney disease tissue. **Journal of the American Society of Nephrology** 14(2):359-66, 2003.

GONZALEZ-PERRETT S, KIM K, IBARRA C, DAMIANO AE, ZOTTA E, BATELLI M, HARRIS PC, REISIN IL, ARNAOUT MA, CANTIELLO HF. Polycystin-2, the protein mutated in autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD), is a Ca²⁺-permeable nonselective cation channel. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 98(3):1182-7, 2001.

GRANTHAM JJ, GEISER JL, EVAN AP. Cyst formation and growth in autosomal dominant polycystic disease. **Kidney International** 31:1145-52, 1987.

GRANTHAM JJ. The etiology, pathogenesis, and treatment of autosomal dominant polycystic kidney disease: recent advance. **American Journal of Kidney Diseases** 28:788-803, 1996.

GRANTHAM JJ. Mechanisms of Progression in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. **Kidney International** 52(63):S93-S97, 1997.

GRANTHAM JJ. The Jeremiah Metzger Lecture: Polycystic kidney disease: old disease in a new context [discussion]. **Transactions of the American Clinical and Climatological Association** 113:211-24, 2002.

GRANTHAM JJ, TORRES VE, CHAPMAN AB, GUAY-WOODFORD LM, BAE KT, KING BF JR, WETZEL LH, BAUMGARTEN DA, KENNEY PJ, HARRIS PC, KLAHR S, BENNETT WM, HIRSCHMAN GN, MEYERS CM, ZHANG X, ZHU F,

- MILLER JP; CRISP INVESTIGATORS. Volume progression in polycystic kidney disease. **The New England Journal of Medicine** 354(20):2122-30, **2006**.
- GRIFFIN MD, O'SULLIVAN DA, TORRES VE, GRANDE JP, KANWAR YS, KUMAR R. Expression of polycystin in mouse metanephros and extra-metanephric tissues. **Kidney International** 52(5):1196-205, **1997a**.
- GRIFFIN MD, TORRES VE, GRANDE JP, KUMAR R. Vascular expression of polycystin. **Journal of the American Society of Nephrology** 8(4):616-26, **1997b**.
- GRIMM DH, CAI Y, CHAUVET V, RAJENDRAN V, ZELTNER R, GENG L, AVNER ED, SWEENEY W, SOMLO S, CAPLAN MJ. Polycystin-1 distribution is modulated by polycystin-2 expression in mammalian cells. **The Journal of Biological Chemistry** 278(38):36786-93, **2003**.
- GRIMM DH, KARIHALOO A, CAI Y, SOMLO S, CANTLEY LG, CAPLAN MJ. Polycystin-2 regulates proliferation and branching morphogenesis in kidney epithelial cells. **The Journal of Biological Chemistry** 281(1):137-44, **2006**.
- GUAY-WOODFORD L. Polycystic kidney disease: The basics. In: **10th Annual Conference on Polycystic Kidney Disease**, disponível em <http://www,hdcn.com/symp/99pkd/guay/guay1,htm> - June **1999a**.
- GUAY-WOODFORD LM. Phenotypic variability in PKD1: the family as a starting point. **Kidney International** 56(1):344-6, **1999b**.
- GUAY-WOODFORD LM. RIP-ed and ready to dance: new mechanisms for polycystin-1 signaling. **Journal of Clinical Investigation** 114:1404-6, **2004**.
- HARRIS PC, THOMAS S, RATCLIFFE PJ, BREUNING MH, COTO E, LOPEZ-LARREA, C. Rapid Genetic Analysis of Families with Polycystic Kidney Disease 1 by Means of a Microsatellite Marker. **The Lancet** 338(8781):1484-7, **1991**.
- HATEBOER N, LAZAROU LP, WILLIAMS AJ, HOLMANS P, RAVINE D. Familial phenotype differences in PKD1. **Kidney International** 56(1):34-40, **1999**.
- HATEBOER N, VELDHUISEN B, PETERS D, BREUNING MH, SAN-MILLAN JL, BOGDANOVA N, COTO E, van DIJK MA, AFZAL AR, JEFFERY S, SAGGAR-MALIK AK, TORRA R, DIMITRAKOV D, MARTINEZ I, de CASTRO SS, KRAWCZAK M, RAVINE D. Location of mutations within the PKD2 gene influences clinical outcome. **Kidney International** 57(4):1444-51, **2000**.
- HIGASHIRA E, NUTAHARA K, KOJIMA M, TAMAKOSHI A, YOSHIYUKI O, SAKAI H, KUROKAWA K. Prevalence and Renal Prognosis of Diagnosed Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease in Japan. **Nephron** 80:421-7, **1998**.
- HJELLE J, MILLER-HJELLE M, POXTON I, KAJANDER O, CIFTCIOGLU N, JONES M, CAUGHEY R, BROWN R, MILLIKIN P, DARRAS F. Endotoxin and Nanobacteria in Polycystic Kidney Disease. **Kidney International** 57:2360-74, **2000**.

- HOCHER B, KALK P, SLOWINSKI T, GODES M, MACH A, HERZFELD S, WIESNER D, ARCK PC, NEUMAYER HH, NAFZ B. ETA receptor blockade induces tubular cell proliferation and cyst growth in rats with polycystic kidney disease. **Journal of the American Society of Nephrology** 14(2):367-76 **2003**.
- HOU X, MRUG M, YODER BK, LEFKOWITZ EJ, KREMMIDIOTIS G, D'EUSTACHIO P, BEIER DR, GUAY-WOODFORD LM. Cystin, a novel cilia-associated protein, is disrupted in the Cpk mouse model of polycystic kidney disease. **Journal of Clinical Investigation** 109:533-40, **2002**.
- HUAN Y, vanADELSBERG J. Polycystin-1, the PKD1 gene product, is in a complex containing E-cadherin and the catenins. **The Journal of Clinical Investigation** 104(10):1459-68, **1999**.
- HUSSON H, MANAVALAN P, AKMAEV VR, RUSSO RJ, COOK B, RICHARDS B, BARBERIO D, LIU D, CAO X, LANDES GM, WANG CJ, ROBERTS BL, KLINGER KW, GRUBMAN SA, JEFFERSON DM, IBRAGHIMOV-BESKROVNAYA O. New insights into ADPKD molecular pathways using combination of SAGE and microarray technologies. **Genomics** 84(3):497-510, **2004**.
- HUTSON J, TORRES VE, SULLIVAN PP, OFFORD KP, WIEBERS DO. Value of magnetic resonance angiography for the detection of intracranial aneurysms in autosomal polycystic kidney disease. **Journal of American Society of Nephrology** 3:1871-7, **1993**.
- IBRAGHIMOV-BESKROVNAYA O, DACKOWSKI WR, FOGGENSTEINER L, COLEMAN N, THIRU S, PETRY LR, BURN TC, CONNORS TD, van RAAJ T, BRADLEY J, QIAN F, ONUCHIC LF, WATNICK TJ, PIONTEK K, HAKIM RM, LANDES GM, GERMINO GG, SANDFORD R, KLINGER KW. Polycystin: in vitro synthesis, in vivo tissue expression, and subcellular localization identifies a large membrane-associated protein. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 94:6397-6402, **1997**.
- IGLESIAS CG, TORRES VE, OFFORD KP, HOLLEY KE, BEARD CM, KURLAND LT. Epidemiology of adult polycystic kidney disease, Olmsted County, Minnesota: 1935-1980. **American Journal of Kidney Diseases** 2(6):630-9, **1983**.
- IGLESIAS DM, TELLERIA D, VIRIBAY M, HERRERA M, BERNATH VA, KORNBLIHTT AR, MARTIN RS, MILLAN JL. A novel frameshift mutation (2436insT) produces an immediate stop codon in the autosomal dominant polycystic kidney disease 2 (*PKD2*) gene. **Nephrology Dialysis Transplantation** 15(4):477-80, **2000**.
- JAUREGUI AR, BARR MM. Functional characterization of the C, *elegans* nephrocystins NPHP-1 and NPHP-4 and their role in cilia and male sensory behaviors. **Experimental Cell Research** 305:333-42, **2005**.

- JEFFERY S, MORGAN S. An unreported RFLP for probe 218 EP6 that is useful in linkage analysis of adult polycystic kidney disease. **Human Genetics** 92(4):428, 1993.
- KAARIAINEN H. Polycystic kidney disease in children: a genetic and epidemiological study of 82 Finnish patients. **Journal of Medical Genetics** 24(8):474-81, 1987.
- KIM K, DRUMMOND I, IBRAGHIMOV-BESKROVNAYA O, KLINGER K, ARNAOUT MA. Polycystin 1 is required for the structural integrity of blood vessels. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 97(4):1731-6, 2000.
- KIM UK, SHIN JH, LEE KB, KIM SH, CHAE JJ, HONG SS, JIN DK, NAMKOONG Y, LEE CC. Polymorphisms in the human autosomal dominant polycystic kidney disease 2 (PKD2) gene. **Molecular and Cellular Probes** 13(3):247-50, 1999.
- KIM UK, JIN DK, AHN C, SHIN JH, LEE KB, KIM SH, CHAE JJ, HWANG DY, LEE JG, NAMKOONG Y, LEE CC. Novel Mutations of the *PKD1* Gene in Korean Patients With Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. **Mutation Research Genomics** 432(1-2):39-45, 2000.
- KIMBERLING WJ, KUMAR S, GABOW PA, KENYON JB, CONNOLLY CJ, SOMLO S. Autosomal dominant polycystic kidney disease: localization of the second gene to chromosome 4q13-q23. **Genomics** 18(3):467-72, 1993.
- KIMBERLING WJ, FAIN PR, KENYON JB, GOLDFAR D, SUJANSKY E, GABOW P. Linkage Heterogeneity of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. **The New England Journal of Medicine** 319:913-8, 1988.
- KOBAYASHI H, KAWAMOTO S, BRECHBIEL MW, JO SK, HU X, YANG T, DIWAN BA, WALDMANN TA, SCHNERMANN J, CHOYKE PL, STAR RA. Micro-MRI methods to detect renal cysts in mice. **Kidney International** 65(4):1511-6, 2004.
- KOPTIDES M, CONSTANTINIDES R, KYRIAKIDES G, HADJIGAVRIEL M, PATSALIS PC, PIERIDES A, DELTAS CC. Loss of heterozygosity in polycystic kidney disease with a missense mutation in the repeated region of *PKD1*. **Human Genetics** 103(6):709-17, 1998.
- LAGER DJ, QIAN Q, BENGAL RJ, ISHIBASHI M, TORRES VE. The pck rat: a new model that resembles human autosomal dominant polycystic kidney and liver disease. **Kidney International** 59:126-36, 2001.
- LEE S, PARK SK, KANG SK, KIM W. A case of unilateral renal cystic disease. **Nephrology** 9(1):31-2, 2004.
- LI A, DAVILA S, FURU L, QIAN Q, TIAN X, KAMATH PS, KING BF, TORRES VE, SOMLO S. Mutations in *PRKCSH* cause isolated autosomal dominant polycystic liver disease. **American Journal of Human Genetics** 72(3):691-703, 2003a.

- LI A, TIAN X, SUNG SW, SOMLO S. Identification of two novel polycystic kidney disease-1-like genes in human and mouse genomes. **Genomics** 81(6):596-608, **2003b**.
- LONGA L, SCOLARI F, BRUSCO A, CARBONARA C, POLIDORO S, VALZORIO B, RIEGLER P, MIGONE N, MAIORCA R. A large TSC2 and PKD1 gene deletion is associated with renal and extrarenal signs of autosomal dominant polycystic kidney disease. **Nephrology Dialysis Transplantation** 12(9):1900-7, **1997**.
- MAGISTRONI R, HE N, WANG K, ANDREW R, JOHNSON A, GABOW P, DICKS E, PARFREY P, TORRA R, SAN-MILLAN JL, COTO E, VAN DIJK M, BREUNING M, PETERS D, BOGDANOVA N, LIGABUE G, ALBERTAZZI A, HATEBOER N, DEMETRIOU K, PIERIDES A, DELTAS C, ST GEORGE-HYSLOP P, RAVINE D, PEI Y. Genotype-renal function correlation in type 2 autosomal dominant polycystic kidney disease. **Journal of the American Society of Nephrology** 14(5):1164-74, **2003**.
- MALHAS AN, ABUKNESHA RA, PRICE RG. Polycystin-1: immunoaffinity isolation and characterization by mass spectrometry, **FEBS Letters** 505(2):313-6, **2001**,
- MENGERINK KJ, MOY GW, VACQUIER VD. suREJ proteins: new signalling molecules in sea urchin spermatozoa. **Zygote** 8:S28-S30, **2000**.
- MILUTINOVIC J, FIALKOW P, AGODOA L, PHILLIPS L, RUDD T, SUTHERLAND S. Clinical Manifestations of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease in Patients Older Than 50 Years. **American Journal of Kidney Diseases** 15(3):237-43, **1990**.
- MORGAN D, TURNPENNY L, GOODSHIP J, DAI W, MAJUMDER K, MATTHEWS L, GARDNER A, SCHUSTER G, VIEN L, HARRISON W, ELDER FF, PENMAN-SPLITT M, OVERBEEK P, STRACHAN T. Inversin, a novel gene in the vertebrate left-right axis pathway, is partially deleted in the inv mouse. **Nature Genetics** 20:149-56, **1998**.
- MOY GW, MENDOZA LM, SCHULTZ JR, SWANSON JR, GLABE CG, VACQUIRE VC. The sea urchin sperm receptor for egg jelly is a modular protein with extensive homology to the human polycystic kidney disease protein *PKD1*. **Journal of Cell Biology** 133:809-17, **1996**.
- MULLER U, BRANDLI AW. Cell adhesion molecules and extracellular-matrix constituents in kidney development and disease. **Journal of Cell Science** 112:3855-67, **1999**.
- MURCIA NS, WOYCHIK RP, AVNER ED. The Molecular Biology of Polycystic Kidney Disease. **Pediatric Nephrology** 12:721-6, **1998**.
- MURCIA NS, SWEENEY WE JR, AVNER ED. New insights into the molecular pathophysiology of polycystic kidney disease. **Kidney International** 55(4):1187-97, **1999**.

- NAULI SM, ALENGHAT FJ, LUO Y, WILLIAMS E, VASSILEV P, LI X, ELIA AE, LU W, BROWN EM, QUINN SJ, INGBER DE, ZHOU J. Polycystin 1 and 2 mediate mechanosensation in the primary cilium of kidney cells. **Nature Genetics** 33:129-37, **2003**.
- NEOPHYTOU P, CONSTANTINIDES R, LAZAROU A, PIERIDES A, DELTAS CC. Detection of a novel nonsense mutation and an intragenic polymorphism in the PKD1 gene of a Cypriot family with autosomal dominant polycystic kidney disease. **Human Genetics** 98(4):437-42, **1996**.
- NIMS N, VASSMER D, MASER RL. Transmembrane domain analysis of polycystin-1, the product of the polycystic kidney disease-1 (PKD1) gene: evidence for 11 membrane-spanning domains. **Biochemistry** 42(44):13035-48, **2003**.
- NUNES ACF, ROISENBERG I, PICCOLI E, WEBER R, SATLER F, GRASSELLI F, WAINBERG F, BOHN F, BARROS EJG. Adult polycystic kidney disease in patients on haemodialysis in the south of Brazil. **Nephrology Dialysis Transplantation** 18:2686-7, **2003**.
- ONG AC. Cyst formation in ADPKD: new insights from natural and targeted mutants. **Nephrology Dialysis Transplantation** 14(3): 544-6, **1999**.
- ONG AC, WARD CJ, BUTLER RJ, BIDDOLPH S, BOWKER C, TORRA R, PEI Y, HARRIS PC. Coordinate expression of the autosomal dominant polycystic kidney disease proteins, polycystin-2 and polycystin-1, in normal and cystic tissue. **The American Journal of Pathology** 154(6):1721-9, **1999**.
- ONG AC, WHEATLEY DN. Polycystic kidney disease--the ciliary connection. **Lancet** 361(9359):774-6, **2003**.
- ONG ACM, HARRIS PC. Molecular pathogenesis of ADPKD: the polycystin complex gets complex. **Kidney International** 67(4):1234-47, **2005**.
- ONUICHIC LF. Bases moleculares das doenças renais policísticas genéticas. In: Atualidades em Nefrologia 5, **Sarvier Editora**, São Paulo, pp 438-54, **1998**.
- ORELLANA SA, AVNER ED. Cystic maldevelopment of the kidney. **Seminars in Nephrology** 15(4):341-52, **1995a**.
- ORELLANA SA, SWEENEY WE, NEFF CD, AVNER ED. Epidermal growth factor receptor expression is abnormal in murine polycystic kidney. **Kidney International** 47:490-9, **1995b**.
- OSADA S, EBIHARA I, SETOGUCHI Y, TAKAHASHI H, TOMINO Y, KOIDE H. Gene therapy for renal anemia in mice with polycystic kidney using an adenovirus vector encoding the human erythropoietin gene. **Kidney International** 55(4):1234-40, **1999**.
- O'SULLIVAN DA, TORRES VE, GABOW PA, THIBODEAU SN, KING BF, BERGSTRALH EJ. Cystic fibrosis and the phenotypic expression of autosomal

- dominant polycystic kidney disease. **American Journal of Kidney Diseases** 32(6):976-83, **1998**.
- PARNELL SC, CALVET JP. Phosphorilation of PKD1 protein, polycystin-1. **Journal of American Society of Nephrology** 8:378A, **1997**.
- PARNELL SC, MAGENHEIMER BS, MASER RL, RANKIN CA, SMINE A, OKAMOTO T, CALVET JP. The polycystic kidney disease-1 protein, polycystin-1, binds and activates heterotrimeric G-proteins in vitro. **Biochemical and Biophysical Research Communications** 251(2):625-31, **1998**.
- PATEL HP, LU L, BLASZAK RT, BIKSLER JJ. *PKD1* intron 21: triplex DNA formation and effect on replication. **Nucleic Acids Research** 32(4):1460-8, **2004**.
- PATERSON AD, PEI Y. *PKD3* - to be or not to be? **Nephrology Dialysis Transplantation** 14(12):2965-6, **1999**.
- PATERSON AD, MAGISTRONI R, HE N, WANG K, JOHNSON A, FAIN PR, DICKS E, PARFREY P, ST GEORGE-HYSLOP P, PEI Y. Progressive loss of renal function is an age-dependent heritable trait in type 1 autosomal dominant polycystic kidney disease. **Journal of the American Society of Nephrology** 16(3):755-62, **2005**.
- PAZOUR GJ, SAN AGUSTIN JT, FOLLIT JA, ROSENBAUM JL, WITMAN GB. Polycystin-2 localizes to kidney cilia and the ciliary level is elevated in Orpk mice with polycystic kidney disease. **Currents in Biology** 12:2347-55, **2002**.
- PEI Y, HE N, WANG K, KASENDA M, PATERSON AD, CHAN G, LIANG Y, ROSCOE J, SOMLO S, GEORGE-HYSLOP P. A Spectrum of Mutations in the Polycystic Kidney Disease-2 (*PKD2*) Gene from Eight Canadian Kindreds. **Journal of American Society of Nephrology** 9(10):1853-60, **1998a**.
- PEI Y, WANG K, KASENDA M, PATERSON A, LIANG Y, HUANG E, LIAN J, ROGOVEA E, SOMLO S, GEORGE-HYSLOP P. A Novel Frameshift Mutation Induced by an Adenosine Insertion in the Polycystic Kidney Disease 2 (*PKD2*) Gene. **Kidney International** 53(5):1127-32, **1998b**.
- PEI Y, WATNICK T, HE N, WANG K, LIANG Y, PARFREY P, GERMINO G, ST GEORGE-HYSLOP P. Somatic *PKD2* mutations in individual kidney and liver cysts support a "two-hit" model of cystogenesis in type 2 autosomal dominant polycystic kidney disease. **Journal of the American Society of Nephrology** 10(7):1524-9, **1999**.
- PEI Y, PATERSON AD, WANG KR, HE N, HEFFERTON D, WATNICK T, GERMINO GG, PARFREY P, SOMLO S, ST GEORGE-HYSLOP P. Bilineal disease and trans-heterozygotes in autosomal dominant polycystic kidney disease. **American Journal of Human Genetics** 68(2):355-63, **2001**.
- PEI Y. Nature and nurture on phenotypic variability of autosomal dominant polycystic kidney disease. **Kidney International** 67(4):1630-1, **2005**.

- PELTOLA P, LUMIAHO A, MIETTINEN R, PIHLAJAMAKI J, SANDFORD R, LAAKSO M. Genetics and phenotypic characteristics of autosomal dominant polycystic kidney disease in Finns. **Journal of Molecular Medicine** 83(8):638-46, **2005**.
- PERAL B, GAMBLE V, SAN MILLAN JL, STRONG C, SLOANE-STANLEY J, MORENO F, HARRIS PC. Splicing mutations of the polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene induced by intronic deletion. **Human Molecular Genetics** 4(4):569-74, **1995**.
- PERAL B, MILLÁN JLS, ONG ACM, GAMBLE V, WARD C, STRONG C, HARRIS PC. Screening the 3' Region of the Polycystic Kidney Disease 1 (*PKD1*) Gene Reveals Six Novel Mutations. **American Journal of Human Genetics** 58(1):86-96, **1996a**.
- PERAL B, ONG AC, SAN MILLAN JL, GAMBLE V, REES L, HARRIS PC. A stable, nonsense mutation associated with a case of infantile onset polycystic kidney disease 1 (*PKD1*). **Human Molecular Genetics** 5(4):539-42, **1996b**.
- PERAL B, GAMBLE V, STRONG C, ONG AC, SLOANE-STANLEY J, ZERRES K, WINEARLS CG, HARRIS PC. Identification of mutations in the duplicated region of the polycystic kidney disease 1 gene (*PKD1*) by a novel approach. **American Journal of Human Genetics** 60(6):1399-410, **1997**.
- PERSU A, DEVUYST O, LANNOY N, MATERNE R, BROSNAHAN G, GABOW PA, PIRSON Y, VERELLEN-DUMOULIN C. CF gene and cystic fibrosis transmembrane conductance regulator expression in autosomal dominant polycystic kidney disease. **Journal of the American Society of Nephrology** 11(12):2285-96, **2000**.
- PETERS DJ, SPRUIT L, SARIS JJ, RAVINE D, SANDKUIJL LA, FOSSDAL R, BOERSMA J, van EIJK R, NORBY S, CONSTANTINOU-DELTAS CD, PIERIDES A, BRIESSENDEN JE, FRANTS RR, van OMMEN JB, BREUNING MH. Chromosome 4 localization of a second gene for autosomal dominant polycystic kidney disease. **Nature Genetics** 5:359-62, **1993**.
- PETERS DJ, van de WAL A, SPRUIT L, SARIS JJ, BREUNING MH, BRUIJN JA, DE HEER E. Cellular localization and tissue distribution of polycystin-1, **The Journal of Pathology** 188(4):439-46, **1999**,
- PHAKDEEKITCHAROEN B, WATNICK TJ, GERMINO GG. Mutation analysis of the entire replicated portion of PKD1 using genomic DNA samples. **Journal of the American Society of Nephrology** 12(5):955-63, **2001**.
- PRITCHARD L, SLOANE-STANLEY JA, SHARPE JA, ASPINWALL R, LU W, BUCKLE V, STRMECKI L, WALKER D, WARD CJ, ALPERS CE, ZHOU J, WOOD WG, HARRIS PC. A human PKD1 transgene generates functional polycystin-1 in mice and is associated with a cystic phenotype. **Human Molecular Genetics** 9(18):2617-27, **2000**.

- QIAN F, WATINICK TJ, ONUCHIC LF, GERMINO GG. The Molecular Basis of Focal Cyst Formation in Human Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease Type I. **Cell** 87:979-87, **1996**.
- QIAN F, GERMINO FJ, CAI Y, ZHANG X, SOMLO S, GERMINO GG. *PKD1* interacts with *PKD2* through a probable coiled-coil domain. **Nature Genetics** 16(2):179-83, **1997**.
- QIAN F, BOLETTA A, BHUNIA AK, XU H, LIU L, AHRABI AK, WATNICK TJ, ZHOU F, GERMINO GG. Cleavage of polycystin-1 requires the receptor for egg jelly domain and is disrupted by human autosomal-dominant polycystic kidney disease 1-associated mutations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 99(26):16981-6, **2002**.
- QIAN Q, LI M, CAI Y, WARD CJ, SOMLO S, HARRIS PC, TORRES VE. Analysis of the polycystins in aortic vascular smooth muscle cells. **Journal of the American Society of Nephrology** 14(9):2280-7, **2003**.
- QIN H, ROSENBAUM JL, BARR MM. An autosomal recessive polycystic kidney disease gene homolog is involved in intraflagellar transport in *C. elegans* ciliated sensory neurons. **Current Biology** 11(6):457-61, **2001**.
- RAVINE D, WALKER RG, GIBSON RN, FORREST SM, RICHARDS RI, FRIEND K, SHEFFIELD LJ, KINCAID-SMITH P, DANKS DM. Phenotype and genotype heterogeneity in autosomal dominant polycystic kidney disease. **Lancet** 340(8831):1330-33, **1992**.
- REEDERS ST, BREUNING MH, DAVIES KE, NICHOLLS RD, JARMAN AP, HIGGS DR, PEARSON PL, WEATHERALL DJ. A Highly Polymorphic DNA Marker Linked to Adult Polycystic Kidney Disease on Chromosome 16. **Nature** 317:542-4, **1985**.
- REEDERS ST, BREUNING MH, CORNEY G, JEREMIAH SJ, MEERA KHAN P, DAVIES KE, HOPKINSON DA, PEARSON PL, WEATHERALL DJ. Two Genetic Markers Closely Linked to Adult Polycystic Kidney Disease on Chromosome 16. **British Medicine Journal** 292:851-3, **1986**.
- REYNOLDS DM, HAYASHI T, CAI Y, VELDHUISEN B, WATNICK TJ, LENS XM, MOCHIZUKI T, QIAN F, MAEDA Y, LI L, FOSSDAL R, COTO E, WU G, BREUNING MH, GERMINO GG, PETERS DJ, SOMLO S. Aberrant splicing in the *PKD2* gene as a cause of polycystic kidney disease. **Journal of the American Society of Nephrology** 10(11):2342-51, **1999**.
- RINKEL GJE, DJIBUTI M, ALGRA A, van GIJN J. Prevalence and risk of rupture of intracranial aneurysms: a systemic review. **Stroke** 29:251-6, **1998**.
- RODOVA M, ISLAM MR, MASER RL, CALVET JP. The polycystic kidney disease-1 promoter is a target of the beta-catenin/T-cell factor pathway. **The Journal of Biological Chemistry** 277(33):29577-83, **2002**.

- RODOVA M, ISLAM MR, PETERSON KR, CALVET JP. Remarkable sequence conservation of the last intron in the PKD1 gene. **Molecular Biology and Evolution** 20(10):1669-74, **2003**.
- ROELFSEMA JH, SPRUIT L, SARIS JJ, CHANG P, PIRSON Y, van OMMEN G, PETERS DJ, BREUNING MH. Mutation detection in the repeated part of the *PKD1* gene. **American Journal of Human Genetics** 61(5):1044-52, **1997**.
- ROMEO G, DEVOTO M, COSTA G, RONCUZZI L, CATIZONE L, ZUCHELLI P, GERMINO GG, KEITH T, WEATHERALL DJ, REEDERS ST. A Second Genetic Locus for Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. **The Lancet** 2(8601):8-11, **1988**.
- ROSSETTI S, BURTON S, STRMECKI L, POND GR, SAN MILLAN JL, ZERRES K, BARRATT TM, OZEN S, TORRES VE, BERGSTRALH EJ, WINEARLS CG, HARRIS PC. The position of the polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene mutation correlates with the severity of renal disease. **Journal of the American Society of Nephrology** 13(5):1230-7, **2002a**.
- ROSSETTI S, CHAUVEAU D, WALKER D, SAGGAR-MALIK A, WINEARLS CG, TORRES VE, HARRIS PC. A complete mutation screen of the ADPKD genes by DHPLC. **Kidney International** 61(5):1588-99, **2002b**.
- ROSSETTI S, CHAUVEAU D, KUBLY V, SLEZAK JM, SAGGAR-MALIK AK, PEI Y, ONG AC, STEWART F, WATSON ML, BERGSTRALH EJ, WINEARLS CG, TORRES VE, HARRIS PC. Association of mutation position in polycystic kidney disease 1 (*PKD1*) gene and development of a vascular phenotype. **Lancet** 361(9376):2196-201, **2003**.
- ROZANSKI J, KOZLOWSKA I, MYSLAK M, DOMANSKI L, SIENKO J, CIECHANOWSKI K, OSTROWSKI M. Pretransplant nephrectomy in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. **Transplantation Proceedings** 37(2):666-8, **2005**.
- RUGGIERI PM, POULOS N, MASARYK TJ. Occult intracranial aneurysms in polycystic kidney disease: screening with MR angiography. **Radiology** 191:33-9, **1994**.
- RUSSO RJ, HUSSON H, JOLY D, BUKANOV NO, PATEY N, KNEBELMANN B, IBRAGHIMOV-BESKROVNAYA O. Impaired formation of desmosomal junctions in ADPKD epithelia. **Histochemistry and Cell Biology** 124(6):487-97, **2005**.
- SANDFORD R, SGOTTO B, APARICIO S, BRENNER S, VAUDIN M, WILSON RK, CHISSOE S, PEPIN K, BATEMAN A, CHOTHIA C, HUGHES J, HARRIS P. Comparative analysis of the polycystic kidney disease 1 (*PKD1*) gene reveals an integral membrane glycoprotein with multiple evolutionary conserved domains. **Human Molecular Genetics** 6(9):1483-9, **1997**.

- SCHÄFER K, GRETZ N, BADER M, OBERBAUMER I, ECKARDT KU, KRIZ W, BACHMANN S. Characterization of the Han:SPRD rat model for hereditary polycystic kidney disease. **Kidney International** 46(1):134-52, **1994**.
- SESSA A, GHIGGERI GM, TURCO AE. Autosomal dominant polycystic kidney disease: clinical and genetic aspects. **Journal of Nephrology** 10(Suppl-6):295-310, **1997**.
- SESSO R, ANÇÃO MS, MADEIRA AS. Aspectos Epidemiológico do Tratamento Dialítico na Grande São Paulo. **Revista da Associação Médica do Brasil** 40(1):10-14, **1994**.
- SHARP C, JOHNSON A, GABOW P. Factors Relating to Urinary Protein Excretion in Children with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. **Journal of the American Society of Nephrology** 9:1908-14, **1998**.
- SHILLINGFORD JM, MURCIA NS, LARSON CH, LOW SH, HEDGEPEETH R, BROWN N, FLASK CA, NOVICK AC, GOLDFARB DA, KRAMER-ZUCKER A, WALZ G, PIONTEK KB, GERMINO GG, WEIMBS T. The mTOR pathway is regulated by polycystin-1, and its inhibition reverses renal cystogenesis in polycystic kidney disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 103(14):5466-71, **2006**.
- SNAREY A, THOMAS S, SCHNEIDER MC, POUND SE, BARTON N, WRINGHT AF, SOMLO S, GERMINO GG, HARRIS PC, REEDERS ST, FRISCHAUF AM. Linkage Disequilibrium in the Region of the Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease Gene (*PKD1*). **American Journal of Human Genetics** 55(2):365-71, **1994**.
- STREETS AJ, NEWBY LJ, O'HARE MJ, BUKANOV NO, IBRAGHIMOV-BESKROVNAYA O, ONG AC. Functional analysis of PKD1 transgenic lines reveals a direct role for polycystin-1 in mediating cell-cell adhesion. **Journal of the American Society of Nephrology** 14(7):1804-15, **2003**.
- STREETS AJ, MOON DJ, KANE ME, OBARA T, ONG AC. Identification of an N-terminal glycogen synthase kinase 3 phosphorylation site which regulates the functional localization of polycystin-2 in vivo and in vitro. **Human Molecular Genetics** 15(9):1465-73, **2006**.
- SULIKOWSKI T, KAMINSKI M, ROZANSKI J, ZIETEK Z, DOMANSKI L, MAJEWSKI W, SIENKO J, ROMANOWSKI M, MIZERSKI A, MYSLAK M, TEJCHMAN K, PABISIAK K, NOWACKI M, OSTROWSKI M, CIECHANOWSKI K. Laparoscopic removal of renal cysts in patients with ADPKD as an alternative method of treatment and patient preparation for kidney transplantation: preliminary results. **Transplantation Proceedings** 38(1):23-7, **2006**.
- TAO Y, KIM J, SCHRIER RW, EDELSTEIN CL. Rapamycin markedly slows disease progression in a rat model of polycystic kidney disease. **Journal of the American Society of Nephrology** 16(1):46-51, **2005a**.

- TAO Y, KIM J, STANLEY M, HE Z, FAUBEL S, SCHRIER RW, EDELSTEIN CL. Pathways of caspase-mediated apoptosis in autosomal-dominant polycystic kidney disease (ADPKD). **Kidney International** 67(3):909-19, **2005b**.
- THONGNOPPAKHUN W, LIMWONGSE C, VAREESANGTHIP K, SIRINAVIN C, BUNDITWORAPOOM D, RUNGROJ N, YENCHITSOMANUS PT. Novel and de novo PKD1 mutations identified by multiple restriction fragment-single strand conformation polymorphism (MRF-SSCP). **BMC Medical Genetics** 5:2, **2004**.
- TORRA R, BADENAS C, DARNELL A, BRU C, ESCORSELL A, ESTIVILL X. Autosomal dominant polycystic kidney disease with anticipation and Caroli's disease associated with a PKD1 mutation. **Kidney International** 52(1):33-8, **1997**.
- TORRA R, VIRIBAY M, TELLERÍA D, BADENAS C, WATSON M, HARRIS P, DARNELL A, SAN MILLÁN JL. Seven Novel Mutations of the PKD2 Gene in Families with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. **Kidney International** 56(1):28-33, **1999**.
- TORRES VE. Cyclic AMP at the hub of the cystic cycle. **Kidney International** 66(3):1283-5, **2004**.
- TSIOKAS L, KIM E, ARNOULD T, SUKHATME VP, WALZ G. Homo- and heterodimeric interactions between the gene products of *PKD1* and *PKD2*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 94(13):6965-70, **1997**.
- TSUCHIYA K, KOMEDA M, TAKAHASHI M, YAMASHITA N, CIGIRA M, SUZUKI T, SUZUKI K, NIHEI H, MOCHIZUKI T. Mutational analysis within the 3' region of the PKD1 gene in Japanese families. **Mutation Research Genomics** 458:77-84, **2001**.
- TURCO AE, ROSSETTI S, BRESIN E, CORRA S, GAMMARO L, MASCHIO G, PIGNATTI PF. A novel nonsense mutation in the PKD1 gene (C3817T) is associated with autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) in a large three-generation Italian family. **Human Molecular Genetics** 4(8):1331-5, **1995**.
- U,S, Renal Data System, USRDS 2005 Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States. **National Institutes of Health**, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, **2005**. Disponível em <http://www.usrds.org/>
- VELDHUISEN B, SARIS JJ, DE HAIJ S, HAYASHI T, REYNOLDS DM, MOCHIZUKI T, ELLES R, FOSSDAL R, BOGDANOVA N, van DIJK MA, COTO E, RAVINE D, NORBY S, VERELLEN-DUMOULIN C, BREUNING MH, SOMLO S, PETERS DJ. A spectrum of mutations in the second gene for autosomal dominant polycystic kidney disease (*PKD2*). **American Journal of Human Genetics** 61(3):547-55, **1997**.

- VERLINSKY Y, RECHITSKY S, VERLINSKY O, OZEN S, BECK R, KULIEV A. Preimplantation genetic diagnosis for polycystic kidney disease. **Fertility and Sterility** 82(4):926-9, **2004**.
- VIRIBAY M, FERREIRA R, PERAL B, BELLO D, WARD CJ, DAVALOS J, VALLE C, HARRIS PC, MENDEZ del CASTILLO D, MORENO F, SAN MILLÁN JL. Genetic analysis of Cuban autosomal dominant polycystic kidney disease kindreds using RFLPs and microsatellite polymorphisms linked to the PKD1 locus. **Human Genetics** 94(4):432-6, **1994**.
- VIRIBAY M, TELLERIA D, VELASCO E, MORENO F, san MILLAN JL. Dinucleotide repeat polymorphism at the D4S2458 locus close to the *PKD2* locus on human chromosome 4q. **Human Genetics** 95(5):601-2, **1995**.
- VOUK K, STRMECKI L, STEKROVA J, REITEROVA J, BIDOVEC M, HUDLER P, KENIG A, JEREB S, ZUPANIC-PAJNIC I, BALAZIC J, HAARPAINTNER G, LESKOVAR B, ADAMLJE A, SKOFLIC A, DOVC R, HOJS R, KOMEL R. *PKD1* and *PKD2* mutations in Slovenian families with autosomal dominant polycystic kidney disease. **BMC Medical Genetics** 7:6, **2006**.
- WANG H, KUWATA S, JUJI T, YANAGISAWA M, TOKUNAGA K, HORIE S, HIGASHIHARA E, KUROKAWA K, YOSHIKURA H, SHIBATA Y. Ethnic Differences in Allele Frequencies of Two Microsatellite Markers Closely Linked to the Locus for Polycystic Kidney Disease 1 (*PKD1*). **Human Heredity** 45(2):84-9, **1995**.
- WANG S, LUO Y, WILSON PD, WITMAN GB, ZHOU J. The autosomal recessive polycystic kidney disease protein is localized to primary cilia, with concentration in the basal body area. **Journal of the American Society of Nephrology** 15(3):592-602, **2004**.
- WATNICK TJ, PIONTEK KB, CORDAL TM, WEBER H, GANDOLPH MA, QIAN F, LENS XM, NEUMANN HP, GERMINO GG. An unusual pattern of mutation in the duplicated portion of *PKD1* is revealed by use of a novel strategy for mutation detection. **Human Molecular Genetics** 6(9):1473-81, **1997**.
- WATNICK TJ, GANDOLPH MA, WEBER H, NEUMANN HP, GERMINO GG. Gene conversion is a likely cause of mutation in *PKD1*. **Human Molecular Genetics** 7(8):1239-43, **1998**.
- WATNICK T & GERMINO GG. Molecular basis of autosomal dominant polycystic kidney disease. **Seminars in Nephrology** 19(4):327-43, **1999**.
- WATNICK T, PHAKDEEKITCHAROEN B, JOHNSON A, GANDOLPH M, WANG M, BRIEFEL G, KLINGER KW, KIMBERLING W, GABOW P, GERMINO GG. Mutation detection of *PKD1* identifies a novel mutation common to three families with aneurysms and/or very-early-onset disease. **American Journal of Human Genetics** 65(6):1561-71, **1999**.
- WILLMAN CL, BUSQUE L, GRIFFITH BB, FAVARA BE, MCCLAIN KL, DUNCAN MH, GILLILAND DG. Langerhans'-Cell Histiocytosis (Histiocytosis X) - A Clonal

- Proliferative Disease. **The New England Journal of Medicine** 331:154-60, **1994**.
- WILSON PD, HOVATER JS, CASEY CC, FORTENBERRY JA, SCHWIEBERT EM. ATP release mechanisms in primary cultures of epithelia derived from the cysts of polycystic kidneys. **Journal of the American Society of Nephrology** 10(2):218-29, **1999**.
- WILSON PD. Polycystin: new aspects of structure, function, and regulation. **Journal of the American Society of Nephrology** 12(4):834-45, **2001**.
- WILSON PD. Polycystic kidney disease: new understanding in the pathogenesis. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology** 36(10):1868-73, **2004**.
- WU G, D'AGATI V, CAI Y, MARKOWITZ G, PARK JH, REYNOLDS DM, MAEDA Y, LE TC, HOU H, KUCHERLAPTTI R, EDELMANN W, SOMLO S. Somatic Inactivation of Pkd2 Results in Polycystic Kidney Disease. **Cell** 93:177-88, **1998**.
- YAMAGUCHI T, PELLING JC, RAMASWAMY NT, EPPLER JW, WALLACE DP, NAGAO S, ROME LA, SULLIVAN LP, GRANTHAM JJ. cAMP stimulates the in vitro proliferation of renal cyst epithelial cells by activating the extracellular signal-regulated kinase pathway. **Kidney International** 57(4):1460-71, **2000**.
- YODER BK, HOU X, GUAY-WOODFORD LM. The polycystic kidney disease proteins, polycystin-1, polycystin-2, polaris, and cystin, are co-localized in renal cilia. **Journal of the American Society of Nephrology** 13(10):2508-16, **2002**.
- YOUNG AE, BILLER DS, HERRGESELL EJ, ROBERTS HR, LYONS LA. Feline polycystic kidney disease is linked to the PKD1 region. **Mammalian Genome** 16(1):59-65, **2005**.
- ZERRES K, RUDNIK-SCHONEBORN S, DEGET F. Childhood onset autosomal dominant polycystic kidney disease in sibs: clinical picture and recurrence risk, German Working Group on Paediatric Nephrology (Arbeitsgemeinschaft für Padiatrische Nephrologie). **Journal of Medical Genetics** 30(7):583-8, **1993**.
- ZHANG Q, TAULMAN PD, YODER BK. Cystic kidney diseases: all roads lead to the cilium. **Physiology (Bethesda)** 19:225-30, **2004**.