

RENE POLICISTICO AUTOSOMICO DOMINANTE: DAI GENI AL CILIO

R. Magistroni, L. Furci, A. Albertazzi

Divisione di Nefrologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria, Policlinico di Modena, Università degli Studi, Modena

Autosomal dominant polycystic kidney disease: from genes to cilium

Autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) is a quite frequent monogenic hereditary disease. The incidence has been reported to range between 1:400 and 1:1000 life births. The disease is caused by a mutation of the PKD1 gene in 85% of the cases and by a mutation of the PKD2 gene in the remaining 15%. The main characteristic of this condition is the development of renal cysts. Observations regarding various cystic kidney diseases sustained by mutations of different genes are steadily converging to a common point. This unifying element is the primary cilium. The cilium, which has long been considered a mere biological oddity, has lately become the focus of intense scientific attention because it may turn out to be the key to the understanding of cystic degeneration. The cilia can be regarded as sensors projecting out of the cell. In particular in the kidney they are located in an ideal place to capture information from the tubular lumen. One of the roles the cilia may play is the reception of chemical signals. An alternative hypothesis attributes to the cilia the role of mechanosensors capable of detecting variations of the urine flux in the tubular lumen. The cilium projects itself into the lumen where it can readily capture variations in the external environment and transmit them to the cell by as yet undefined pathways. This is the still largely unexplored frontier that will provide the elements needed to understand and treat renal cystic diseases. (G Ital Nefrol 2008; 25: 183-91)

Conflict of interest: None

KEY WORDS:

Autosomal dominant polycystic kidney disease, Renal cysts, Renal failure, Cilium, PKD1, PKD2

PAROLE CHIAVE:

Cilio, Cisti Renali, Insufficienza Renale, PKD1, PKD2, Rene Policistico Autosomico Dominante

✉ Indirizzo degli Autori:

Dr. Riccardo Magistroni
Divisione di Nefrologia
Azienda Ospedaliero-Universitaria
Policlinico di Modena
Università degli Studi
Via del Pozzo, 71
41100 Modena
e-mail: Riccardo.Magistroni@unimore.it

La malattia policistica autosomica dominante (ADPKD) è una malattia ereditaria monogenica relativamente frequente nella popolazione generale. La sua incidenza, infatti, è variamente descritta in letteratura tra 1:400 e 1:1000 nati vivi. La frequenza di ADPKD non è trascurabile se si considera che è più comune della malattia di Huntington, dell'emofilia, dell'anemia falciforme, della fibrosi cistica, della distrofia muscolare e della sindrome di Down combinate insieme. ADPKD è causata da mutazioni a carico dei geni PKD1 e PKD2 che rispettivamente codificano per le proteine transmembrana policistica-1 e policistica-2 (1-3). La caratteristica principale di questa affezione è lo sviluppo di cisti renali, un fenotipo per la verità non esclusivo di questa patologia ma manifestato anche da altre sindromi umane (Rene policistico autosomico recessivo, sindrome di Bardet-Biedl, sindrome di Meckel, nefronoftisi, ecc.). Di tutte queste, ADPKD è di gran lunga la più significativa in termini di incidenza.

Sorprendentemente gli studi che hanno avuto origine da osservazioni su malattie renali cistiche diverse, sostenute da mutazioni su geni differenti stanno progressivamente convergendo verso un punto comune.

Questo elemento unificatore è il cilio primario, un organo scoperto nella cellula epiteliale tubulare almeno un secolo fa (4), da sempre considerato una mera curiosità biologica e di significato vestigiale. Il cilio (cellulare) è invece recentemente divenuto il soggetto di una intensissima attenzione scientifica perché sospettato di rappresentare la migliore chiave di lettura della degenerazione in senso cistico del rene.

I GENI

Le ricerche che hanno condotto all'identificazione e al sequenziamento dei geni coinvolti in ADPKD hanno avuto inizio nei primi anni '80 attraverso un approccio definito "positional cloning". Con tale termine si intende il riconoscimento sempre più preciso e dettagliato della localizzazione del gene sospetto a livello cromosomico sfruttando l'associazione (*linkage*) a marker genetici noti. Nel 1994 l'individuazione di una famiglia affetta da ADPKD, colpita da una traslocazione cromosomica bilanciata a livello del *locus* di PKD1 ha permesso l'individuazione del suo gene (1). Nel 1996

infine è stato identificato il secondo gene coinvolto nella patologia (PKD2) attraverso tecniche di *positional cloning*, studi di espressione e approcci bioinformatici di analisi di omologia di sequenza con PKD1 (2).

Le mutazioni di PKD1 sono responsabili dell'85% dei casi di ADPKD mentre quelle di PKD2 sono responsabili del resto dei casi. Sebbene le manifestazioni cliniche nelle due forme siano sovrapponibili, i pazienti con mutazioni a carico di PKD2 presentano i sintomi più tardivamente e hanno mediamente una progressione verso l'insufficienza renale più lenta, con una sopravvivenza renale più lunga (69 anni) rispetto ai pazienti con mutazioni di PKD1 (53 anni) (5). Il gene PKD1 si colloca sul braccio corto del cromosoma 16 in prossimità del gene della sclerosi tuberosa di tipo 2 (TSC2) che si presenta in una collocazione telomerica rispetto a PKD1 (Fig. 1). Oltre alla semplice associazione topografica, i due geni sono correlati anche funzionalmente come dimostrato dalla anomala localizzazione subcellulare della policistina-1 in modelli di ratto con delezione per il gene TSC2 (6). Coerentemente i due geni presentano anche una correlazione di interesse clinico: sono stati infatti descritti casi di ampie delezioni che coinvolgono contemporaneamente PKD1 e TSC2. Nei pazienti in cui si realizza questa condizione si sviluppa un fenotipo cistico particolarmente precoce e grave (7-9), con evoluzione verso l'insufficienza renale terminale molto più rapida di quanto non avvenga mediamente nelle consuete forme di ADPKD.

La regione genomica di PKD1 ha una struttura complessa: la porzione del gene che va dall'esone 1 all'esone 33 è duplicato in 6 geni ad alta omologia "Homology Genes" (Fig. 1). L'origine di questi geni è il frutto di una ancestrale duplicazione genomica di PKD1. Tali geni presentano una identità di oltre il 75% con PKD1 ed esprimono altrettanti RNA messaggeri. Ne deriva che solo la porzione 3' terminale del gene PKD1 (circa un quarto del gene) non è duplicato. L'identità ai geni di omologia ha ostacolato e ritardato il sequenziamento completo di PKD1 e rende tuttora complessa, sotto il profilo tecnico, la ricerca delle mutazioni (10-12).

Il gene PKD1 consta di 46 esoni, il suo mRNA è lungo 14 Kb (1 Kb, 1 Kilobase pari a 1000 nucleotidi). La proteina codificata, policistina-1, è lunga 4302 aminoacidi ed ha un peso molecolare di circa 460 Kilodalton (kDa) (1, 3).

Nel 1996 è stato clonato il gene PKD2 (2) precedentemente localizzato sul braccio lungo del cromosoma 4 (4q22) (13, 14); è compreso in una regione genomica di 68 Kb ed è trascritto in un mRNA di circa 5.4 Kb. La proteina codificata da questo mRNA viene chiamata policistina-2, consta di 968 aminoacidi (aa) ed ha un peso molecolare di 110 kDa.

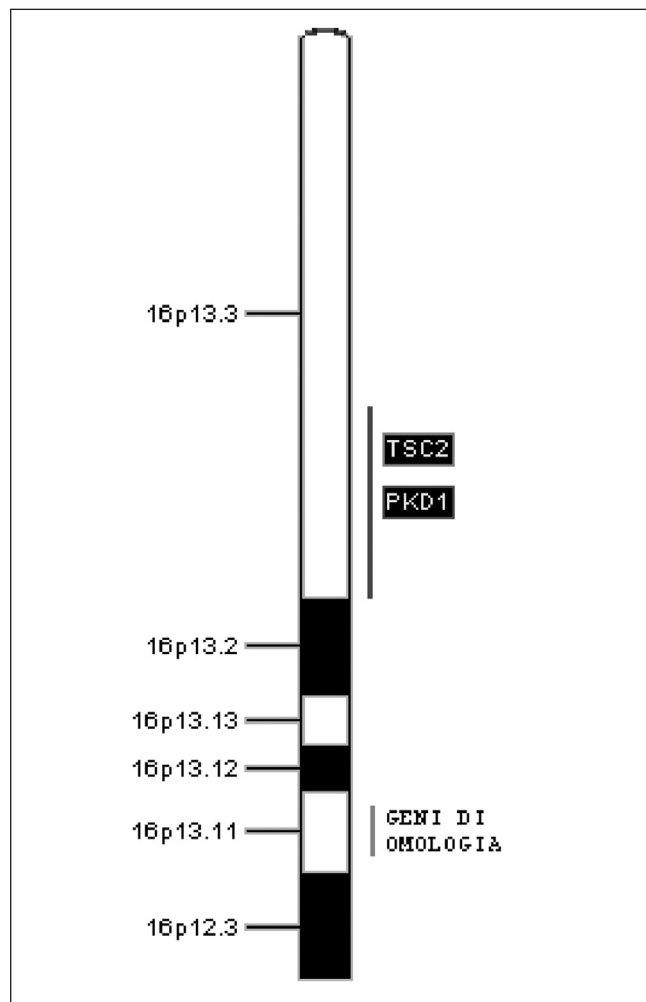


Fig. 1 - Organizzazione cromosomica del gene PKD1, TSC2 e dei geni di omologia.

STUDI DI OMOLOGIA

La struttura delle proteine policistina-1 e -2 è stata dedotta dallo studio delle sequenze ottenute dai relativi cDNA. La policistina-1 è una grossa proteina transmembrana in cui i principali domini identificati includono un dominio Ricco in Ripetizioni di Leucina (LRR) fiancheggiato a monte e a valle da domini Ricchi in Cisteina, un dominio lectinico di tipo C (C-LECT), un dominio simile alla lipoproteina a bassa densità di tipo A (LDL-A), 16 domini simili a quelli delle Immunoglobuline (Ig-like) e da 7 a 11 regioni transmembrana (1, 3).

La tipologia dei domini identificati suggerisce che la proteina policistina-1 sia una proteina transmembrana con una porzione NH₂ terminale extracellulare ed una COOH terminale intracellulare. La policistina-2 ha 6 regioni transmembrana e, sia la porzione NH₂ che COOH terminale, sono intracellulari e si collocano nel lato citosolico (2). È stato dimostrato che la policistina-

1 si aggrega alla policistina-2 attraverso le rispettive regioni citosoliche COOH terminali (15, 16). L'ipotesi che la proteina policistina-1 e policistina-2 cooperino in un unico complesso macromolecolare spiega perché mutazioni che colpiscano uno dei due geni codificanti determinino un fenotipo cistico sostanzialmente indistinguibile.

STUDI DI ESPRESSIONE

Sono stati condotti diversi studi sul livello di trascrizione dell'RNA messaggero di PKD1 e studi di espressione della proteina policistina-1 per mezzo di anticorpi specifici (17-20). Gli studi di espressione tissutale relativi alla proteina policistina-2 evidenziano una sostanziale identità di espressione rispetto a quella della policistina-1 confermando l'ipotesi che le due proteine eterodimerizzano in un unico complesso. La policistina-1 è espressa prevalentemente dalle cellule epiteliali, ma anche le cellule endoteliali, le cellule muscolari lisce dei vasi, le cellule muscolari striate e gli astrociti del sistema nervoso centrale (17) hanno manifestato in immunostochimica una spiccata positività di espressione. La proteina è presente nei tumori renali e la sua espressione aumenta notevolmente nelle zone di proliferazione tubulare (19). Nell'adulto la policistina-1 è espressa anche nelle strutture duttali biliari da cui derivano le formazioni cistiche epatiche nel paziente con ADPKD, ed è espressa inoltre nelle strutture duttali pancreatiche (17-19) e della ghiandola mammaria (17).

TEST DI VERIFICA

1) La incidenza di ADPKD riportata in letteratura è:

- a. Tra 1:40 e 1:100 nati vivi
- b. Tra 1:400 e 1:1000 nati vivi
- c. Tra 1:4000 e 1:10000 nati vivi.

2) Le mutazioni dei geni PKD1 e PKD2 provocano ugualmente la comparsa di ADPKD però:

- a. I pazienti affetti da mutazioni di PKD2 hanno una progressione della malattia più rapida
- b. I pazienti affetti da mutazioni di PKD1 hanno una progressione della malattia più rapida
- c. Solo i pazienti portatori di mutazioni sia a carico di PKD1 che di PKD2 hanno una evoluzione fino alla insufficienza renale terminale.

3) I geni di omologia:

- a. Interferiscono con la normale funzione cellulare di PKD1 e causano la malattia cistica
- b. Hanno un ruolo centrale nel controllo di espressione di PKD1

- c. Costituiscono un impedimento tecnico alla analisi di sequenza di PKD1
- d. Codificano per la policistina-2.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet www.sin-italy.org/gin e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

PERDITA DI ETEROZIGOSITÀ ED EFFETTO DOSAGGIO

Nel rene di soggetti affetti da ADPKD meno dell'1% dei nefroni sviluppano cisti suggerendo che la cistogenesi sia un processo focale che può originare in qualsiasi porzione del tubulo prossimale o distale. La mutazione germinale è presente in tutte le cellule epiteliali tubulari, ma solo da alcune di queste si svilupperanno le cisti.

Alcuni studi hanno dimostrato la natura clonale delle cisti (21). Infatti, prelevando cellule epiteliali da cisti di donne affette da ADPKD è possibile testarne la clonalità attraverso una tecnica basata sulla inattivazione del cromosoma X. Con questa metodologia è stato dimostrato che circa lo 82% delle cisti analizzate ha una natura monoclonale. La quota non monoclonale delle cisti può essere spiegata come risultato della fusione di più cisti vicine oppure può essere attribuita a contaminazione dei campioni con cellule non epiteliali di origine stromale.

Queste osservazioni hanno suggerito che la formazione delle cisti sia un processo che richiede due eventi successivi secondo il modello della "perdita di eterozigotità" (noto anche come "*two hit hypothesis*"), un processo già identificato in diverse patologie a carattere neoplastico dove siano coinvolti geni oncosoppressori. Il primo evento è quello di natura ereditaria per cui tutte le cellule dell'organismo dell'individuo portatore presentano un allele del gene PKD1 mutato (o PKD2 nelle famiglie in cui la malattia è legata all'altro gene). Il secondo evento mutazionale, che avviene a livello somatico nelle cellule tubulari, altera la copia residua del gene PKD1 ed innesca il processo di cistogenesi (Fig. 2). È evidente che il meccanismo qui ipotizzato ha sorprendenti analogie sotto il profilo biologico con un processo neoplastico, e secondo tale modello ogni cisti deriverebbe dall'incontrollata proliferazione di una singola cellula inizialmente alterata.

Recenti studi hanno suggerito meccanismi non completamente in accordo con l'ipotesi di perdita di eterozigotità o perlomeno suggeriscono che la patogenesi di ADPKD non risponda completamente solo a questo

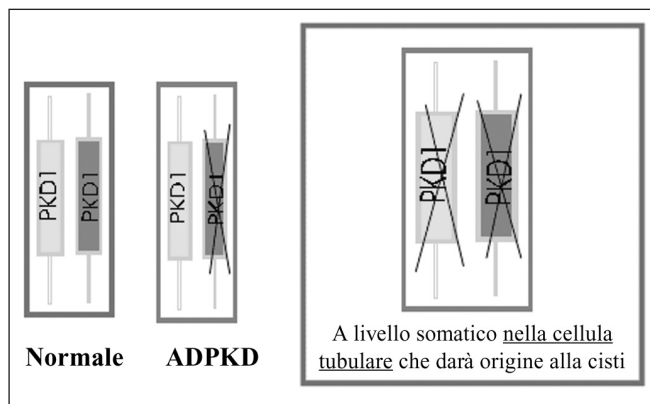


Fig. 2 - Meccanismo di perdita di eterozigotità in PKD1; nella prima Figura a sinistra è rappresentato l'assetto genetico di un soggetto normale con due copie alleliche normali di PKD1; al centro in un paziente ADPKD tutte le cellule presentano una copia alterata del gene PKD1 ed una copia "wild type" ovvero normale; a destra a livello della cellula tubulare in un paziente ADPKD per fenomeni di mutazioni somatiche anche la copia "wild type" del gene risulta alterata (perdita di eterozigotità) e la cellula quindi rimane senza copie normali del gene.

modello, ma presenti anche elementi ascrivibili a fenomeni di "dosaggio genico". In particolare esiste una relazione tra la posizione della mutazione sul gene PKD1 e il fenotipo renale e vascolare (aneurismi cerebrali) (22, 23). In questo senso le mutazioni che si collocano più al 5' nel gene, che quindi producono proteine residue maggiormente deficitarie, presentano un fenotipo renale più grave e manifestano più frequentemente le complicanze aneurismatiche cerebrali. Questo tipo di fenomeno non è stato dimostrato in PKD2 (24). Una possibile spiegazione di questo effetto consiste nell'attribuire alla policistina mutata un effetto "dominante negativo". Secondo questo principio una proteina mutata tronca e non funzionale potrebbe per meccanismi di omodimerizzazione legare la proteina "wild type" e quindi inattivarla. Alternativamente la proteina tronca potrebbe sequestrare un ligando e renderlo indisponibile alla proteina "wild type".

LA NATURA DELLE MUTAZIONI

Le mutazioni a carico di PKD1 sono relativamente frequenti sia per quanto riguarda l'evento mutazionale germinale sia per quanto riguarda la successiva mutazione somatica. Tutte le mutazioni individuate nelle famiglie studiate sono mutazioni "private", il che significa che quasi ogni famiglia presenta una propria specifica mutazione. A livello somatico il gene si dimostra particolarmente pronò ad eventi mutazionali come dimostra l'elevatissimo numero di cisti che si sviluppano a livello renale che, secondo il modello della perdita di eterozigotità, sono l'effetto di altrettante mutazio-

ni a carico della copia "wild type" del gene PKD1 o PKD2. Si suppone che in questa patologia renale il numero di tubuli compromessi si attesti tra l'1 e il 2% del numero complessivo, l'alterazione colpisce quindi migliaia di tubuli. È possibile che la tendenza di PKD1 a subire mutazioni dipenda dalla stessa struttura del gene. Molti tipi diversi di mutazione sono stati osservati lungo il gene, comprese mutazioni della regione di *splicing*, delezioni, inserzioni, mutazioni nonsense e missenso.

UTILITÀ CLINICA DELLA DIAGNOSI CON IL TEST GENETICO MOLECOLARE

Poiché la formazione delle cisti renali è un processo età dipendente, la diagnosi ecografica può produrre risultati falsi negativi in soggetti giovani (25). Inoltre un risultato "falso negativo" a seguito di indagine ecografica è più probabile in famiglie con mutazioni a carico di PKD2 che come già detto presentano un fenotipo meno aggressivo con comparsa più tardiva delle cisti (5). Per questi motivi ci sono alcune condizioni cliniche in cui c'è indicazione ad una diagnosi molecolare basata su un test del DNA (26). Le più significative sono le seguenti: a) nella valutazione di un giovane soggetto a rischio che voglia donare il proprio rene ad un parente affetto da insufficienza renale; b) giovani soggetti in età riproduttiva che vogliono essere informati del proprio reale rischio di essere portatori di mutazioni per una corretta pianificazione familiare; c) condizioni cistiche renali di non ovvia interpretazione diagnostica soprattutto quando è assente una chiara anamnesi familiare per patologia cistica; d) infine, poiché si stanno proponendo nuove terapie in grado di rallentare l'espansione delle cisti renali e numerosi *trial* clinici in fase III stanno iniziando il reclutamento, una terapia iniziata precocemente, forse ancor prima della comparsa delle prime cisti, potrebbe essere maggiormente efficace, come suggerito da alcuni dati preliminari (27-29).

L'analisi molecolare per l'identificazione delle mutazioni soprattutto nel gene PKD1 è estremamente complessa come già accennato nelle sezioni precedenti, sia per la struttura multi esonica, sia per le dimensioni del gene e soprattutto per la presenza dei sei pseudogeni. Solo pochi centri ad altissima specializzazione e dedicati all'analisi di questa patologia sono attualmente in grado di fornire questa analisi.

MODELLI ANIMALI

Numerosi modelli animali sono stati sviluppati per studiare la cistogenesi e per valutare le strategie potenziali per interventi terapeutici. Questi modelli sono deri-

vati sia da mutazioni spontanee, sia da approcci transgenici, per mutagenesi chimica o attraverso *knockout* di specifici geni (30). Le caratteristiche patologiche di questi modelli riproducono sotto molti aspetti la patologia umana. In analogia a quanto avviene nell'uomo in cui malattie diverse determinate da mutazioni di geni differenti sviluppano fenotipi renali cistici, anche in questi modelli esiste una straordinaria omogeneità di fenotipi. Questo fenomeno solleva l'ipotesi di una via patogenetica comune nella quale agiscono in modo cooperativo diversi attori. Un ulteriore indizio che conduce all'ipotesi di un meccanismo unitario è il rapporto ultrastrutturale delle proteine individuate che univocamente presentano una comune localizzazione cellulare. Molte delle proteine identificate in questi modelli animali sono state localizzate nel cilio primario (31, 32), il quale, come già detto, è presente su tutte le cellule epiteliali tubulari renali.

TEST DI VERIFICA

4) Il principio della perdita di eterozigosità può giustificare:

- La presenza dei geni di omologia
- L'espressione della policistina-1 sul cilio primario
- La natura clonale delle cisti
- L'espressione della policistina-1 nei dotti biliari.

5) La mutazione genetica in ADPKD:

- È sempre la stessa in tutte le famiglie analizzate
- Consiste in poche mutazioni ricorrenti e facilmente identificabili
- Quasi ogni famiglia presenta una propria specifica mutazione (mutazioni private).

6) Il test genetico per la ricerca di mutazioni in ADPKD ha questa possibile indicazione clinica:

- Nella valutazione di un giovane soggetto a rischio che voglia donare il proprio rene ad un parente affetto da insufficienza renale
- Tutti i soggetti a rischio con età inferiore ai 18 anni ed ecografia renale negativa
- Giovani soggetti in età riproduttiva che vogliono essere informati del proprio reale rischio di essere portatori di mutazioni per una corretta pianificazione familiare
- Condizioni cistiche renali di non ovvia interpretazione diagnostica soprattutto quando è assente una chiara anamnesi familiare per patologia cistica
- Tutte le precedenti tranne la (b).

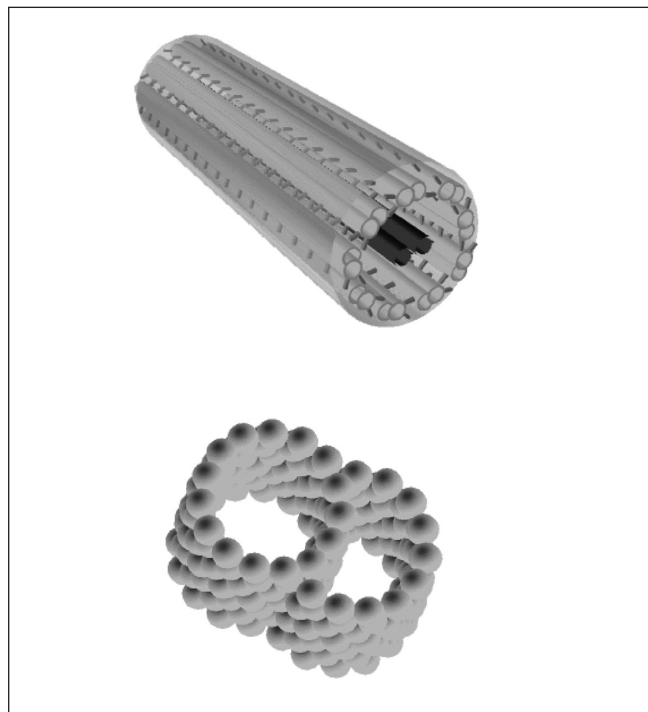


Fig. 3 - In alto organizzazione complessiva del core centrale di tubulina delle cilia costituito da una coppia centrale di microtubuli chiamati assonema e 9 coppie di microtubuli disposti a raggera (struttura 9+2). In basso particolare dell'organizzazione microtubulare della tubulina.

IL CILIO PRIMARIO

Le cilia sono organelli che originano da uno dei corpi basali, una forma modificata di centriolo. Essi sono preferenzialmente presenti nelle cellule epiteliali, ma sono stati documentati in cellule endoteliali, neuroni, fibroblasti, condrociti e molti altri tipi cellulari (33). La struttura generale di un cilio consiste in un core centrale costituito da microtubuli di tubulina, avvolti da una estrusione della membrana plasmatica. Le cilia possono essere mobili o immobili, e queste ultime sono chiamate "cilia primarie". La sezione trasversale di un cilio mostra una organizzazione interna costituita da nove coppie di microtubuli disposti a raggera che possono circondare o meno una coppia di microtubuli centrali (strutture 9+2 o 9+0). Solitamente le strutture 9+0 sono presenti in cilia immobili, mentre le cilia 9+2 sono caratteristiche delle cilia mobili (Fig. 3). Ad esempio, sono cilia del tipo 9+2 quelle dell'epitelio tracheale che posseggono motilità e permettono alla cellula di creare flussi di liquido per l'allontanamento del muco. Nelle cellule ependimali dei ventricoli cerebrali le cilia producono il movimento del liquido cerebrospinale. Le cilia espresse dai nodi embrionali fanno eccezione. Infatti, pur possedendo una struttura 9+0 sono anch'esse dotate di un movimento rotazionale (34) che è

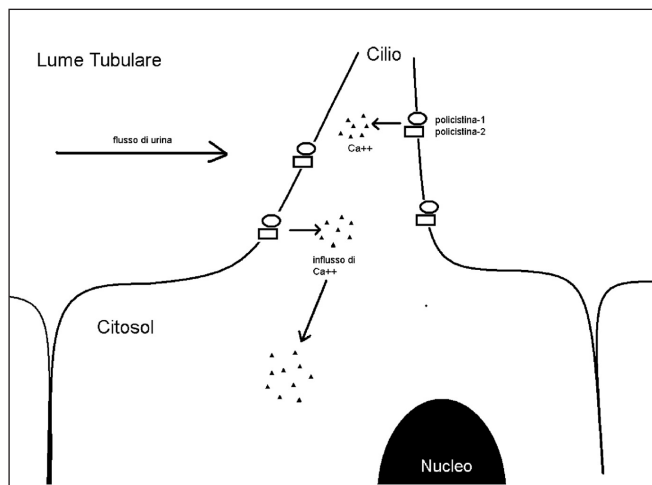


Fig. 4 - La flessione del cilio primario determinato dal flusso di urina intratubulare attiva il complesso proteico policistina-1/policistina-2. Tale attivazione determina un afflusso di Ca^{++} nella cellula attraverso la policistina-2 che funge da canale del Ca^{++} .

essenziale per determinare la simmetria destro-sinistra nello sviluppo embrionale. Le strutture ciliari individuate sulle cellule tubulari hanno una composizione 9+0 e sono immobili.

Le cilia prive di capacità di movimento sono normalmente ritenute organelli sensoriali, coinvolti in processi di ricezione chimica, fotoelettrica o meccanica (35, 36). Infatti, tali strutture si trovano nelle cellule dell'epitelio olfattorio, su coni e bastoncelli della retina, sui neuroni e come già detto nelle cellule tubulari renali.

Mutazioni che impediscono la formazione del cilio o la sua attività sensoriale determinano grosse anomalie nello sviluppo embrionale e nella fisiologia postnatale dei tessuti (37, 38). I difetti del "signaling" del cilio ad esempio producono nella vita postnatale lesioni cistiche a fegato, pancreas e rene, idrocefalo, ritardo mentale, obesità e diabete (39).

Sebbene si sappia poco sulla funzione delle cilia nei mammiferi, studi eseguiti in *Caenorhabditis Elegans* and *Chlamydomonas* hanno fornito alcuni interessanti dettagli su questi processi. Uno dei modelli sviluppati descrive la presenza di un flusso intraflagellare (40). Secondo questo modello esiste un movimento di grandi complessi proteici interno al cilio, in direzione anterograda e retrograda dal corpo basale alla punta del cilio e viceversa. Tra queste proteine è stata identificata anche la Tg737 (*polaris*) che è tra l'altro coinvolta nella patogenesi di un modello di topo transgenico di rene policistico (*orpk*) (41). Una delle funzioni di questo sistema di trasporto intraflagellare è quello di veicolare carichi di recettori, canali, proteine strutturali lungo l'assonema del cilio, così come trasportare segnali cellulari dal cilio verso il citoplasma (42, 43).

Le cilia sono presenti nella maggior parte delle cellule del nefrone, compresa la capsula di Bowman, i tubuli prossimali, l'ansa di Henle ed il dotto collettore (44). Il ruolo delle cilia è stato ignorato per lungo tempo attribuendogli un carattere vestigiale; solo in tempi recenti le cilia sono state messe in relazione alle malattie cistiche (45, 46). In molti casi alle cilia sono stati assegnati ruoli di sensori proiettati al di fuori della cellula. In particolare nel rene le cilia si collocano in una posizione ideale per captare informazioni dal lume tubulare. Uno dei ruoli delle cilia potrebbe essere quindi in relazione alla captazione di stimoli chimici. Ciò potrebbe essere in analogia a quanto individuato nelle cellule olfattive che effettivamente posseggono chemorecettori sulla membrana delle loro cilia. Alcuni recettori accoppiati a proteine G, come il recettore 3 della somatostatina e uno dei recettori della serotonina (5-HT₆), sono stati localizzati sulle membrane delle cilia di neuroni. Allo stesso modo quindi il cilio delle cellule renali potrebbe avere un ruolo nella chemosensibilità delle cellule tubulari in risposta a cambiamenti chimici che avvengano nel lume tubulare. Una ipotesi alternativa attribuisce alle cilia delle cellule tubulari un ruolo di meccanosensori in grado di percepire variazioni nel flusso di urina all'interno del lume tubulare. In cellule in coltura è stato dimostrato che la flessione del cilio aumenta la concentrazione cellulare di Ca^{++} . L'ingresso del calcio è verosimilmente mediata dall'apertura del canale al calcio rappresentato dal complesso policistina-1/policistina-2 sul cilio primario (47, 48) (Fig. 4). Questa ipotesi è rafforzata da altri dati che indicano l'abolizione di questo flusso di Ca^{++} in cellule in cui siano state soppresse la policistina-1 o la policistina-2 (49, 50).

È nota una relazione tra il cilio ed il controllo della proliferazione cellulare: la cellula non è in grado di entrare nel ciclo cellulare fino al momento del riassorbimento del cilio. In particolare una delle proteine del trasporto intraflagellare, la proteina Tg737 (*polaris*), è stata messa in relazione alle transizioni del ciclo cellulare in senso proliferativo o apoptotico (51).

Inoltre, è stata individuata una relazione tra policistina-1 e controllo dell'espressione della proteina mTOR (*mammal Target Of Rapamycin*), una proteina coinvolta nel controllo della sintesi proteica e della crescita cellulare (52, 53).

In quale modo questi flussi di Ca^{++} intracellulare modifichino la biologia della cellula tubulare non è ancora definito. Il futuro prossimo della ricerca di base riguarda quindi l'analisi di come questo afflusso di Ca^{++} produca l'attivazione delle specifiche vie cellulari in termini di cascate di *protein kinasi*, espressione genica, con i conseguenti fenomeni cellulari di apoptosi, proliferazione cellulare, differenziamento e alterato trasporto di fluidi e ioni.

CONCLUSIONI

Le numerose acquisizioni scientifiche che hanno portato dalla scoperta dei geni coinvolti nella ADPKD alla localizzazione delle proteine espresse sul cilio primario, hanno gettato nuova luce su questa patologia. Sempre più chiaramente nelle cellule tubulari renali viene delineandosi la funzione di meccanosensore del cilio primario: tale funzione potrebbe essere presente anche in strutture extrarenali (dotti biliari, pancreatici, endotelio). Il cilio protrude nel lume tubulare dove può prontamente cogliere i cambiamenti dell'ambiente esterno e trasmetterli all'interno della cellula attraverso vie di trasduzione non ancora completamente caratterizzate. È questa la frontiera in gran parte inesplorata che fornirà gli elementi conoscitivi per comprendere e trattare la patologia cistica renale.

TEST DI VERIFICA

7) Il cilio nelle cellule tubulari renali:

- È un cilio mobile che promuove il flusso intratubulare dell'urina
- È una anomalia embriogenetica presente solo nei pazienti affetti da ADPKD
- È un cilio immobile.

8) Il cilio nelle cellule tubulari:

- È una struttura vestigiale senza alcun significato funzionale
- È una struttura con una verosimile funzione sensoriale
- È una struttura coinvolta nel riassorbimento tubulare di sodio.

9) Dati preliminari suggeriscono che la stimolazione meccanica del cilio primario:

- Promuove un influsso intracellulare di Ca^{++}
- Promuove un influsso intracellulare di K^+
- Riduce la sensibilità della cellula tubulare all'ADH.

stampato e consegnato ai pazienti un volantino informativo utile per una semplice e chiara informazione su ADPKD e sulla missione della Associazione.

- **PKD Foundation** (www.pkdcure.org) fondazione Americana orientata al sostegno dei pazienti affetti da ADPKD e alla ricerca in questa patologia. Contiene a sua volta numerose informazioni ai pazienti, ma esiste anche una sezione orientata alla formazione di medici e infermieri.

RIASSUNTO

La malattia policistica autosomica dominante (ADPKD) è una malattia ereditaria monogenica relativamente frequente nella popolazione generale. La sua incidenza infatti è variamente descritta in letteratura tra 1:400 e 1:1000 nati vivi. La malattia può essere causata da mutazioni a carico del gene PKD1, questo avviene nell'85% delle famiglie affette, o da mutazioni a carico di PKD2, in circa il 15% dei casi. La caratteristica principale di questa affezione è lo sviluppo di cisti renali. Osservazioni su malattie renali cistiche diverse, sostenute da mutazioni su geni differenti stanno progressivamente convergendo verso un punto comune. Questo elemento unificatore è il cilio primario. Da sempre considerato una mera curiosità biologica, il cilio è invece recentemente divenuto il soggetto di una intensa attenzione scientifica perché sospettato di rappresentare la migliore chiave di lettura della degenerazione in senso cistico del rene. Le cilia sono presenti nella maggior parte delle cellule del nefrone. Le cilia sono state spesso riconosciute come sensori proiettati al di fuori della cellula. In particolare nel rene le cilia si collocano in una posizione ideale per captare informazioni dal lume tubulare. Uno dei ruoli delle cilia potrebbe essere quindi la captazione di stimoli chimici. Una ipotesi alternativa attribuisce alle cilia un ruolo di meccanosensori in grado di percepire variazioni nel flusso di urina all'interno del lume tubulare. Il cilio protrude nel lume tubulare dove può prontamente cogliere i cambiamenti dell'ambiente esterno e trasmetterli all'interno della cellula attraverso vie di trasduzione non ancora completamente caratterizzate. È questa la frontiera in gran parte inesplorata che fornirà gli elementi conoscitivi per comprendere e trattare la patologia cistica renale.

LINK UTILI

- **Associazione Italiana Rene Policistico** (www.renepolicistico.it): sito dedicato alla Associazione Italiana rene policistico. Contiene pagine orientate all'informazione del paziente affetto da ADPKD e ai suoi familiari e *link* ad altri siti Internazionali a loro volta impegnati in questo argomento. Sono inoltre pubblicizzati gli incontri e le iniziative promosse dalla Associazione. Può essere scaricato dal sito,

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

BIBLIOGRAFIA

1. European Polycystic Kidney Disease Consortium. The polycystic kidney disease gene 1 encodes a 14 kb transcript and lies within a duplicated region on chromosome 16. *Cell* 1994; 77: 881-94.
2. Mochizuki T, Wu G, Hayashi T, et al. PKD2, a gene for polycystic kidney disease that encodes an integral membrane protein. *Science* 1996; 272: 1339-42.
3. Hughes J, Ward CJ, Peral B, et al. The polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene encodes a novel protein with multiple cell recognition domains. *Nat Genet* 1995; 10: 151-60.
4. Zimmerman KW. Contributing to the knowledge of glands and epithelium (in German). *Arch Mikr Entwicklungsmech* 1898; 52: 552-706.
5. Hateboer N, v Dijk MA, Bogdanova N, et al. Comparison of phenotypes of polycystic kidney disease types 1 and 2. *Lancet* 1999; 353: 103-7.
6. Kleymenova E, Ibraghimov-Beskrovnaya O, Kugoh H, et al. Tuberin-dependent membrane localization of polycystin-1: a functional link between polycystic kidney disease and the TSC2 tumor suppressor gene. *Mol Cell* 2001; 7: 823-32.
7. Sampson JR, Maheshwar MM, Aspinwall R, et al. cystic disease in tuberous sclerosis: role of the polycystic kidney disease 1 gene. *Am J Hum Genet* 1997; 61: 843-51.
8. Torra R, Badenas C, Darnell A, et al. Facilitated diagnosis of the contiguous gene syndrome: tuberous sclerosis and polycystic kidneys by means of haplotype studies. *Am J Kidney Dis* 1998; 31: 1038-43.
9. Harris PC. The TSC2/PKD1 contiguous gene syndrome. *Contrib Nephrol* 1997; 122: 76-82.
10. Rossetti S, Strmecki L, Gamble V, et al. Mutation analysis of the entire PKD1 gene: genetic and diagnostic implications. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 46-63.
11. Phakdeekitcharoen B, Watnick TJ, Germino GG. Mutation analysis of the entire replicated portion of PKD1 using genomic DNA samples. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 955-63.
12. Rossetti S, Chauveau D, Walker D, et al. A complete mutation screen of the ADPKD genes by DHPLC. *Kidney Int* 2002; 61: 1588-99.
13. 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* 1993; 18: 467-72.
14. Schneider MC, Rodriguez AM, Nomura H, et al. A gene similar to PKD1 maps to chromosome 4q22: a candidate gene for PKD2. *Genomics* 1996; 38: 1-4.
15. Qian F, Germino FJ, Cai Y, Zhang X, Somlo S, Germino GG. PKD1 interacts with PKD2 through a probable coiled-coil domain. *Nat Genet* 1997; 16: 179-83.
16. Tsiokas L, Kim E, Arnould T, Sukhatme VP, Walz G. Homodimeric interactions between the gene products of PKD1 and PKD2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 6965-70.
17. Ibraghimov-Beskrovnaya O, Dackowski WR, Foggensteiner L, et al. Polycystin: in vitro synthesis, in vivo tissue expression, and subcellular localization identifies a large membrane-associated protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 6397-402.
18. Ward CJ, Turley H, Ong AC, et al. Polycystin, the polycystic kidney disease 1 protein, is expressed by epithelial cells in fetal, adult, and polycystic kidney. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 1524-8.
19. Geng L, Segal Y, Peissel B, et al. Identification and localization of polycystin, the PKD1 gene product. *J Clin Invest* 1996; 98: 2674-82.
20. Palsson R, Sharma CP, Kim K, McLaughlin M, Brown D, Arnaut MA. Characterization and cell distribution of polycystin, the product of autosomal dominant polycystic kidney disease gene 1. *Mol Med* 1996; 2: 702-11.
21. Qian F, Watnick TJ, Onuchic LF, Germino GG. The molecular basis of focal cyst formation in human autosomal dominant polycystic kidney disease type I. *Cell* 1996; 87: 979-87.
22. Rossetti S, Burton S, Strmecki L, et al. The position of the polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene mutation correlates with the severity of renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1230-7.
23. Rossetti S, Chauveau D, Kubly V, et al. Association of mutation position in polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene and development of a vascular phenotype. *Lancet* 2003 Jun 28; 361: 2196-201.
24. Magistroni R, He N, Wang K, et al. Genotype-renal function correlation in type 2 autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1164-74.
25. 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.
26. Garcia-Gonzalez MA, Jones JG, Allen SK, et al. Evaluating the clinical utility of a molecular genetic test for polycystic kidney disease. *Mol Genet Metab* 2007; 92: 160-7.
27. Torres VE. Therapies to slow polycystic kidney disease. *Nephron Exp Nephrol* 2004; 98 e1-7.
28. Grantham JJ, Torres VE, Chapman AB, et al. Volume progression in polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2006; 354: 2122-30.
29. Walz G. Therapeutic approaches in autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD): is there light at the end of the tunnel? *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 1752-7.
30. Guay-Woodford LM. Murine models of polycystic kidney disease: molecular and therapeutic insights. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285: F1034-49.
31. 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. *Curr Biol* 2002; 12: R378-80.
32. 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. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2508-16.
33. Wheatley DN, Wang AM, Strugnell GE. Expression of primary cilia in mammalian cells. *Cell Biol Int* 1996; 20: 73-81.
34. Nonaka S, Tanaka Y, Okada Y, et al. Randomization of left-right asymmetry due to loss of nodal cilia generating leftward flow of extraembryonic fluid in mice lacking KIF3B motor protein. *Cell* 1998; 95: 829-37.
35. Burchell B. Turning on and turning off the sense of smell. *Nature* 1991; 350: 16-7.
36. Rohlich P. The sensory cilium of retinal rods is analogous to the transitional zone of motile cilia. *Cell Tissue Res* 1975; 161: 421-30.
37. Bisgrove BW, Yost HJ. The roles of cilia in developmental disorders and disease. *Development* 2006; 133: 4131-43.
38. Singla V, Reiter JF. The primary cilium as the cell's antenna: Signaling at a sensory organelle. *Science* 2006; 313: 629-33.
39. Davenport JR, Yoder BK. An incredible decade for the primary cilium: A look at a once-forgotten organelle. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005; 289: F1159-69.
40. Pazour GJ, Rosenbaum JL. Intraflagellar transport and cilia-dependent diseases. *Trends Cell Biol* 2002; 12: 551-5.
41. Moyer JH, Lee-Tischler MJ, Kwon HY, et al. Candidate gene associated with a mutation causing recessive polycystic kidney disease in mice. *Science* 1994; 264: 1329-33.

42. Wang Q, Pan J, Snell WJ. Intraflagellar transport particles participate directly in cilium-generated signaling in *Chlamydomonas*. *Cell* 2006; 125: 549-62.
43. Scholey JM. Intraflagellar transport. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2003; 19: 423-43.
44. Latta H, Maunsbach AB, Maddens SC. Cilia in different segments of the rat nephron. *J Biophys Biochem Cytol* 1961; 11: 248-52.
45. Pazour GJ, Dickert BL, Vucica Y, et al. *Chlamydomonas* IFT88 and its mouse homologue, polycystic kidney disease gene *Tg737*, are required for assembly of cilia and flagella. *J Cell Biol* 2000; 151: 709-18.
46. Yoder BK, Tousson A, Millican L, et al. Polaris, a protein disrupted in *orpk* mutant mice, is required for assembly of renal cilium. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 282: F541-52.
47. Praetorius HA, Spring KR. Bending the MDCK cell primary cilium increases intracellular calcium. *J Membr Biol* 2001; 184: 71-9.
48. Praetorius HA, Spring KR. Removal of the MDCK cell primary cilium abolishes flow sensing. *J Membr Biol* 2003; 191: 69-76.
49. Nauli SM, Alenghat FJ, Luo Y, et al. Polycystins 1 and 2 mediate mechanosensation in the primary cilium of kidney cells. *Nat Genet* 2003; 33: 129-37.
50. McGrath J, Somlo S, Makova S, Tian X, Brueckner M. Two populations of node monocilia initiate left-right asymmetry in the mouse. *Cell* 2003; 114: 61-73.
51. Robert A, Margall-Ducos G, Guidotti JE, et al. The intraflagellar transport component IFT88/polaris is a centrosomal protein regulating G1-S transition in non-ciliated cells. *J Cell Sci* 2007; 120: 628-37.
52. Shillingford JM, Murcia NS, Larson CH, et al. The mTOR pathway is regulated by polycystin-1, and its inhibition reverses renal cystogenesis in polycystic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 5466-71.
53. Mostov KE. mTOR is out of control in polycystic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 5247-8.