

ESTUDIO CLÍNICO Y MUTACIONAL DE UNA COHORTE DE PACIENTES CON MUTACIÓN EN EL GEN *HNF1b*

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN CORRESPONDIENTE AL MÁSTER OFICIAL:
“INVESTIGACIÓ CLÍNICA APLICADA EN CIÈNCIES DE LA SALUT”
Convocatoria junio 2013**

FACULTAT DE MEDICINA / UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

**AUTORA DEL TRABAJO: NADIA AYASREH FIERRO
DIRECCIÓN DEL TRABAJO: DRA. ROSER TORRA BALCELLS**

BARCELONA, 20 DE JUNIO DE 2013

INDICE DEL TRABAJO:

1. Resumen	pg. 3
2. Introducción	pg. 4
3. Material y métodos	pg. 5
4. Resultados	pg. 5
5. Discusión	pg. 9
6. Conclusiones	pg. 11
7. Bibliografía	pg. 12

1. RESUMEN

HNF1B (Hepatocyte Nuclear Factor 1-B localizado en el cromosoma 17q21.3) es un factor de transcripción con un papel fundamental en los primeros estadios del desarrollo y en la organogénesis de diferentes tejidos como el renal, hepático, pancreático o genital. Las mutaciones de este gen se heredan con un patrón autosómico dominante. A nivel renal acostumbran a haber alteraciones morfológicas y grados variables de afectación tubular. A nivel extrarenal se ha relacionado con la diabetes tipo MODY, malformaciones genitales o alteraciones hepáticas. La gran variabilidad de formas de presentación hace que la sospecha clínica resulte en muchas ocasiones dificultosa.

En el presente estudio, se realiza una descripción clínica y génética de los pacientes identificados en nuestro centro con mutación en el gen *HNF1b*. Observamos, en consonancia con lo descrito en la literatura, una gran variabilidad interfamiliar y intrafamiliar, así como una ausencia de relación fenotipo-genotipo en cuanto la forma de presentación o evolución de la enfermedad.

Se recomienda el estudio de *HNF1b* en pacientes pediátricos o adultos con patología estructural renal, especialmente si se asocia a diabetes tipo MODY, malformaciones genitales, hipomagnesemia, hiperuricemia o antecedentes familiares de nefropatía.

2. INTRODUCCIÓN:

HNF1b (factor hepatocitario nuclear 1b, también conocido como TCF2) es un factor de transcripción que regula genes que se expresan durante la embriogénesis de diferentes tejidos, sobretudo el tejido renal, hepático, pancreático y genital. Las mutaciones en el gen que codifica para esta proteína (localizado en el cromosoma 17q12), fueron descritas por primera vez por Horikawa en 1997, en pacientes jóvenes japoneses afectados de diabetes tipo MODY (*Madurity Onset Diabetes of the Youth*) que presentaban a la vez algún tipo de afectación renal no claramente relacionada con nefropatía diabética. Posteriormente se ha observado que las mutaciones en *HNF1b* causan sobretudo malformaciones renales muy variables con grados muy variables también de insuficiencia renal, y en algunos casos se asocia algún tipo de afectación extrarenal (1). El patrón de herencia de esta enfermedad es autosómico dominante, hay un gran porcentaje de mutaciones *de novo* (30-50%) (1;2) y no se ha observado una correlación fenotipo-genotipo (1;3).

HNF1b está relacionado con otras proteínas responsables de enfermedades quísticas renales y hay numerosos modelos experimentales que lo demuestran (3-7).

En cuanto la afectación renal, las malformaciones descritas en la literatura son muy variables (1) (2) (4) (Tabla 1). Puede asociarse una insuficiencia renal de características intersticiales, es decir, de lenta evolución con escasa o nula actividad del sedimento de orina, y grados variables de tubulopatía, en forma de hipomagnesemia, hipopotasemia, hipercuremia o hipocalciuria (3;6).

La afectación extrarenal es también muy variable (4). Además de la diabetes tipo MODY, se han descrito glicemias basales alteradas o predisposición a la diabetes post trasplante, así como hiperuricemia con o sin gota (3) (6). La afectación hepática suele consistir en elevación de las enzimas hepáticas y en algún caso quistes en vía biliar, y la afectación genital descrita en la literatura suelen ser malformaciones del útero (8) (9).

Tabla 1. Resumen de fenotipos renales descritos en la literatura

Etapa prenatal	Quistes renales uni o bilaterales
	Riñones hiperecogénicos
	Riñones aumentados de tamaño
	Hipoplasia renal
Edad infantil	Quistes renales uni o bilaterales
	Agenesia o hipoplasia renal
	Riñón en herradura, riñón solitario
Edad adulta	Quistes renales uni o bilaterales
	Riñones de tamaño normal o disminuido
Alteraciones detectadas en la histología renal	Oligomeganefronia
	Enfermedad glomeruloquística
	Displasia renal
	Nefropatía túbulointersticial

En el presente trabajo se hace una revisión de los pacientes de nuestro centro diagnosticados de mutación en *HNF1b*. Se realiza una descripción del fenotipo y genotipo de éstos.

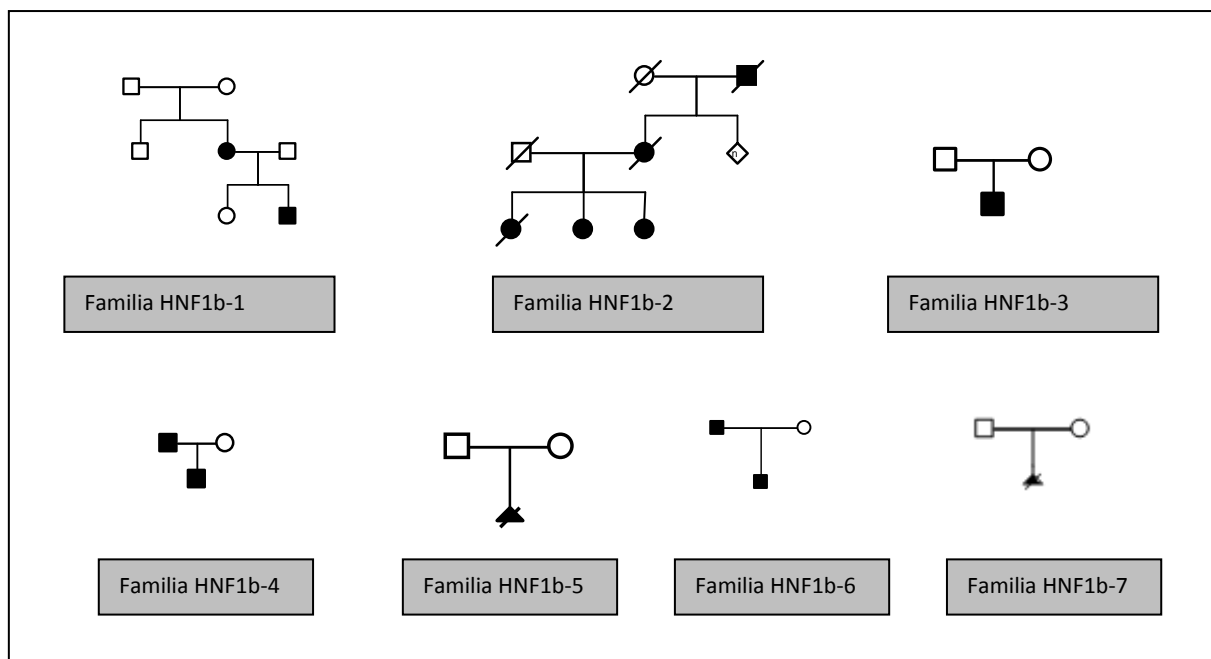
3. MATERIAL Y MÉTODOS:

Análisis de 11 pacientes (7 familias) con patología quística renal de presentación atípica. Se trata de un estudio observacional que estudia todos los pacientes diagnosticados con esta enfermedad en nuestro centro en los últimos 2 años. El análisis mutacional se realiza con técnicas de QMPSPF (*Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments*) y comprobación con sqPCR, así como secuenciación directa.

4. RESULTADOS:

Se identificaron 11 pacientes de 7 familias con mutación en *HNF1b*: 3 mujeres, 6 varones y 2 fetos abortados. La edad media de los pacientes fue de 21,2 años (78-0 años) (Tabla 2)

Figura 1. Pedigrís de las 7 familias con mutación en HNF1b. Las figuras coloreadas de negro indican afectación renal y/o extrarenal.



- **Afectación renal:**

De los dos fetos analizados, uno (HNF1b-7) presentaba quistes renales bilaterales difusos, sugestivos histológicamente de displasia renal y el otro (HNF1b-5), en la descripción de la necropsia, informaban de riñones de arquitectura distorsionada y quistes por todo el parénquima, algunos de ellos correspondían a glomérulos.

En los pacientes pediátricos analizados se observó asimetría renal en 2 de ellos (HNF1b-2 y HNF1b-3), quistes corticales bilaterales en 2 (HNF1b-3, HNF1b-6.1) y aumento de la ecogenicidad y del tamaño renal en 2 (HNF1b-4.2, HNF1b-6.1).

En los pacientes adultos la afectación era más uniforme, presentando todos ellos quistes renales bilaterales con riñones discretamente disminuidos de tamaño. Uno de los pacientes (HNF1b-4.1) analizados presentaba oligomeganeftrosis en la biopsia renal. Llamaba la atención que uno de los pacientes analizados no presentaba alteraciones en la ecografía (HNF1b-6.2).

En cuanto al sedimento de orina, 3/11 presentaron proteinuria pero siempre de rango no nefrótico. Las alteraciones tubulares no fueron constantes. Solo se detectó hipomagnesemia en 1 de los pacientes (HNF1b-1.1) y en otro se objetivó hiperuricemia y gota desde la juventud (HNF1b-4.1).

Tabla 2. Resumen de las características clínicas y fenotipo renal de los pacientes con mutación en *HNF1b*

Paciente	Edad	Sexo	Función renal	Ecografía renal	Sedimento de orina	Otras alteraciones renales
HNF1B-1.1	40	F	Normal	Los dos riñones de tamaño levemente disminuidos (11cm), múltiples pequeños quistes bilaterales.	Proteinuria 130mg/24h	Hipomagnesemia
HNF1B-1.2 (hijo)	7	M	Normal	Riñones asimétricos intraútero. Actualmente monorreno	-	-
HNF1B-2.1	78	F	FG-MDRD 30ml/min/1.73m2	Aumento de la ecogenicidad parenquimatosa y quistes bilaterales de predominio en RI, uno de ellos con una pequeña calcificación parietal.	Proteinuria 300mg/24h	Mg en sangre y orina normales
HNF1B-2.2 (hermana)	74	F	Trasplantada renal a los 68ª	Quistes renales bilaterales	-	-
HNF1B-3	2	M	DMSA RD 10% FG-MDRD 90ml/min/1.73m2	RD disminuido de tamaño. RE: quistes corticales bilaterales	Proteinuria 150mg/24h	-
HNF1B-4.1	43	M	Detección ERC a los 16ª. CUMS normal. Trasplantado a los 40 años Poliuria y polidipsia juventud.	Riñones ligeramente disminuidos de tamaño, quistes renales bilaterales pequeños, parénquima hiperecogénico. Biopsia renal: oligomeganefronia	-	Hiperuricemia y gotas de la juventud
HNF1B-4.2 (hijo)	7 meses	M	Normal	Ecografía prenatal: aumento ecogenicidad y tamaño renal	-	-
HNF1B-5	FETO	-	Oligoamnios severo	Necropsia: riñones con arquitectura distorsionada. 70% ocupado por quistes tanto en la corteza como en la médula, tamaño variable y recubiertos por epitelio cúbico. Algunos de los quistes corresponden a glomérulos, ya que se objetiva el ovillo vascular en su interior.	-	-
HNF1B-6.1	5 meses	M	Normal	Diagnóstico prenatal de displasia renal. Ecografía post-natal: riñones grandes hiperecogénicos y con mala diferenciación corticomedular. Quistes corticales y periféricos y algún medular	Ausencia de proteinuria	-
HNF1B-6.2 (padre)	29	M	Normal	Normal	-	-
HNF1B-7	FETO	-	-	Ecografía: enfermedad quística renal bilateral y simétrica, quistes en todo el parénquima. Histológicamente sugestivo de displasia renal.	-	-

El grado de insuficiencia renal fue muy variable. De los 5 adultos estudiados, 2 presentaban función renal normal (HNF1b-1.1, HNF1b-6.2), 1 enfermedad renal crónica estadio 3b (HNF1b-2.1) y 2 habían sido trasplantados, a los 66 y 40 años respectivamente (HNF1b-2.2, HNF1b-4.1).

- **Afectación extrarenal:**

La afectación extrarenal en nuestra cohorte de pacientes, fue muy discreta. Solo se objetivó diabetes gestacional y posterior glicemia basal alterada en una paciente (HNF1b-1.1), otro paciente presentó diabetes post trasplante (HNF1b-4.1) y un paciente presentaba un quiste en el colédoco sin, alteraciones de las pruebas de función hepática (HNF1b-6.1). No se observó ningún caso de malformación genital.

- **Análisis mutacional:**

De las 7 familias estudiadas, se detectaron grandes reordenaciones genéticas en el 71% (5/7): delección del exón1 y 2 en 1 familia (HNF1b-1), duplicación del exón 1 y 2 en 2 familias (HNF1b-2 y HNF1b-5), y delección del gen completo en 2 familias (HNF1b-3 y HNF1b-6). Se detectaron mutaciones puntuales en el 29% (2/7): 1 mutación *nonsense* (HNF1b-4) y 1 *missense* (HNF1b-7). 2 de los pacientes afectados tenían una mutación *de novo* (HNF1b-5 y HNF1b-7). (Tabla 3)

Tabla 3. Mutaciones detectadas en los pacientes analizados

Paciente	Mutación detectada
HNF1B-1.1	c.[1-?_544+?del] + [=] Delección exones 1 y 2
HNF1B-1.2 (hijo)	c.[1-?_544+?del] + [=] Delección exones 1 y 2
HNF1B-2.1	c.[1-?_544+?dup] + [+] Duplicación exones 1 y 2
HNF1B-2.2 (hermana)	c.[1-?_544+?dup] + [+] Duplicación exones 1 y 2
HNF1B-3	c.[1-?_1674+?del] + [+] Delección gen entero
HNF1B-4.1	p.[Gln182X] + [=] Mutación sin sentido, <i>nonsense</i>
HNF1B-4.2 (hijo)	p.[Gln182X] + [=] Mutación sin sentido, <i>nonsense</i>

5. DISCUSIÓN:

- **Afectación renal:**

Los pacientes con mutación en *HNF1b* diagnosticados en nuestro centro presentan una gran variabilidad fenotípica, en consonancia con lo descrito en la literatura. Se observa un amplio espectro de malformaciones renales, siendo la más frecuente la presencia de quistes renales, sobretodo en la edad adulta (4).

Las formas más agresivas durante el periodo prenatal pueden acabar con interrupción del embarazo por complicaciones severas. El fenotipo renal durante la infancia es muy amplio pero con función renal conservada, por lo que el diagnóstico en muchos casos puede pasar inadvertido. Las afectaciones renales bilaterales, sobretodo quistes, asociados o no a displasia renal, deben de hacer sospechar alteraciones en *HNF1b* (10). Durante la edad adulta, se suele observar una nefropatía intersticial de lenta evolución con poca o nula alteración del sedimento de orina y es muy frecuente la presencia de quistes renales bilaterales con riñones de tamaño renal normal o disminuido. Dada esta clínica tan poco específica estos pacientes no suelen llegar a ser diagnosticados.

En cuanto la afectación tubular, se ha descrito en la literatura, alteraciones iónicas en forma de hipomagnesemia (con hipermagnesuria y fracción excretada de magnesio elevada), hiperuricemia precoz con o sin episodios gotosos (11), hipopotasemia o hipocalciuria (3;6). En la cohorte nuestra, estos hallazgos no han sido una constante. Aunque la hipomagnesemia es un dato con una gran especificidad, la sensibilidad es baja por lo que no se debería considerar como un criterio diagnóstico (6).

A raíz del análisis de nuestra cohorte y observar la gran variabilidad fenotípica, ha aumentado el grado de sospecha de esta entidad en otros pacientes que hasta el momento quedaban etiquetados como nefropatía no filiada.

- **Afectación extrarenal:**

En las cohortes publicadas en la literatura, hay una gran variabilidad de expresión extrarenal. Estas manifestaciones pueden ser de utilidad para aumentar la sospecha de esta entidad. Por ejemplo, en nuestra cohorte, la diabetes gestacional de la paciente

HNF1b-1, sí que resultó de interés para la sospecha clínica de ésta entidad. Los demás pacientes no presentaron afectación extrarenal destacada.

A nivel hepático se han descrito sobretodo alteraciones de las pruebas de función hepática, sin llegar a causar insuficiencia hepática a largo plazo(9).

La afectación pancreática puede ser tanto exocrina como endocrina, aunque es más frecuente la forma endocrina, en forma de diabetes tipo MODY. Queda claro en los estudios publicados, que esta forma de diabetes u otras formas de afectación extrarenal, no han de ser un criterio diagnóstico de mutación en *HNF1b*, y tampoco queda claro que todos los pacientes con esta mutación, acaben presentando algún tipo de diabetes (3;4;6).

La afectación genital más descrita es el útero bicorne, hasta un 42% en algunas series (9), aunque se han descrito atrofia del útero, atrofia vaginal, malformaciones ováricas... (9).

Se han descrito en la literatura pacientes con delección o duplicación del gen HNF1b entero, que presentan retraso mental severo con epilepsia y displasia cortical (12) (13). Se desconoce la implicación de este gen en el desarrollo neurológico.

- **Análisis mutacional:**

En la actualidad, se han descrito más de 60 mutaciones en la literatura (14). La mayoría de las mutaciones se detectan en los 5 primeros exones (4), sobretodo en el exón 2: Dicho exón codifica para el dominio POU, crítico para la función de la proteína (1). El porcentaje de casos de novo es de aproximadamente el 30-50%, según las series (15).

En cuanto al tipo de mutación, la mayoría de las descritas en la literatura son grandes reordenaciones genéticas (deleciones del gen completo o menos frecuentemente, delección de un solo exón), como en nuestra cohorte, pero se han descrito también, un gran numero de mutaciones puntuales *missense*, *nonsense*, *frameshift* o *splicing* (15) (7). Una de las mutaciones detectadas en nuestra cohorte, en dos familias diferentes (HNF1b-2 y HNF1b-5) se trata de una duplicación en heterocigosis de los exones 1 y 2, no descrita anteriormente y claramente patogénica y con un espectro fenotípico muy diferente.

Nuestro análisis de pacientes, así como la mayoría de los artículos publicados, confirman una escasa correlación fenotipo genotipo en cuanto la forma de presentación o evolución de la enfermedad (3). La misma mutación en familias diferentes, puede condicionar fenotipos muy variables, pero incluso la misma mutación en la familia, puede tener una expresividad clínica muy diferente. Por ejemplo, en nuestra cohorte se observó la misma mutación (duplicación del exón 1 y 2) en una paciente con 78ª con una enfermedad renal de muy lenta y leve afectación (HNF1b-2.1), y un feto con oligoamnios severo que requirió interrupción del embarazo (HNF1b-5). Ya se han descrito en la literatura casos con esta variabilidad, pero no con esta mutación tan severa. Por otra parte, esta misma paciente de 78ª, tiene una hermana con la misma mutación con una insuficiencia renal bastante más severa, trasplantada renal a los 66 años (HNF1b-2.2).

Esta gran variabilidad, puede retrasar el diagnóstico. Es posible que otros factores genéticos o ambientales expliquen la gran variabilidad fenotípica (1) (7;16).

6. CONCLUSIONES:

1. Enfermedad con una gran variabilidad fenotípica; las malformaciones renales son las alteraciones más frecuentes y las extrarenales pueden ayudar a la sospecha clínica
2. En sincronía a los casos y cohortes publicados en la literatura, hay una ausencia de correlación entre fenotipo y genotipo.
3. Se recomienda su estudio genético en caso de malformaciones renales congénitas o quistes renales en el adulto no sugestivos de poliquistosis renal, insuficiencia renal de características intersticiales y/o afectación extrarenal como la diabetes, malformaciones genitales o hepato-pancreáticas, con patrón de herencia autosómico dominante
4. Son precisos más estudios para detectar otros genes asociados protectores o favorecedores, que expliquen esta gran variabilidad en la expresión fenotípica.

7. BIBLIOGRAFÍA:

- (1) Edghill EL, Bingham C, Ellard S, Hattersley AT. Mutations in hepatocyte nuclear factor-1beta and their related phenotypes. *J Med Genet* 2006 January;43(1):84-90.
- (2) Decramer S, Parant O, Beauvils S, Clauin S, Guillou C, Kessler S, Aziza J, Bandin F, Schanstra JP, Bellanne-Chantelot C. Anomalies of the TCF2 gene are the main cause of fetal bilateral hyperechogenic kidneys. *J Am Soc Nephrol* 2007 March;18(3):923-33.
- (3) Heidet L, Decramer S, Pawtowski A, Moriniere V, Bandin F, Knebelmann B, Lebre AS, Faguer S, Guignon V, Antignac C, Salomon R. Spectrum of HNF1B mutations in a large cohort of patients who harbor renal diseases. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010 June;5(6):1079-90.
- (4) Bingham C, Hattersley AT. Renal cysts and diabetes syndrome resulting from mutations in hepatocyte nuclear factor-1beta. *Nephrol Dial Transplant* 2004 November;19(11):2703-8.
- (5) Hiesberger T, Bai Y, Shao X, McNally BT, Sinclair AM, Tian X, Somlo S, Igarashi P. Mutation of hepatocyte nuclear factor-1beta inhibits Pkhd1 gene expression and produces renal cysts in mice. *J Clin Invest* 2004 March;113(6):814-25.
- (6) Adalat S, Woolf AS, Johnstone KA, Wirsing A, Harries LW, Long DA, Hennekam RC, Ledermann SE, Rees L, Van'T HW, Marks SD, Trompeter RS, Tullus K, Winyard PJ, Cansick J, Mushtaq I, Dhillon HK, Bingham C, Edghill EL, Shroff R, Stanescu H, Ryffel GU, Ellard S, Bockenhauer D. HNF1B mutations associate with hypomagnesemia and renal magnesium wasting. *J Am Soc Nephrol* 2009 May;20(5):1123-31.
- (7) Faguer S, Decramer S, Devuyt O, Lengele JP, Fournie GJ, Chauveau D. Expression of renal cystic genes in patients with HNF1B mutations. *Nephron Clin Pract* 2012;120(2):c71-c78.
- (8) Madariaga L, Moriniere V, Jeanpierre C, Bouvier R, Loget P, Martinovic J, Dechelotte P, Leporrier N, Thauvin-Robinet C, Jensen UB, Gaillard D, Mathieu M, Turlin B, ttie-Bitach T, Salomon R, Gubler MC, Antignac C, Heidet L. Severe Prenatal Renal Anomalies Associated with Mutations in HNF1B or PAX2 Genes. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013 March 28.
- (9) Faguer S, Decramer S, Chassaing N, Bellanne-Chantelot C, Calvas P, Beauvils S, Bessenay L, Lengele JP, Dahan K, Ronco P, Devuyt O, Chauveau D. Diagnosis, management, and prognosis of HNF1B nephropathy in adulthood. *Kidney Int* 2011 October;80(7):768-76.
- (10) Ulinski T, Lescure S, Beauvils S, Guignon V, Decramer S, Morin D, Clauin S, Deschenes G, Bouissou F, Bensman A, Bellanne-Chantelot C. Renal phenotypes related to hepatocyte nuclear factor-1beta (TCF2) mutations in a pediatric cohort. *J Am Soc Nephrol* 2006 February;17(2):497-503.
- (11) Bingham C, Ellard S, van't Hoff WG, Simmonds HA, Marinaki AM, Badman MK, Winocour PH, Stride A, Lockwood CR, Nicholls AJ, Owen KR, Spyer G, Pearson ER, Hattersley AT. Atypical familial juvenile hyperuricemic nephropathy associated with a hepatocyte nuclear factor-1beta gene mutation. *Kidney Int* 2003 May;63(5):1645-51.

- (12) Mefford HC, Clauin S, Sharp AJ, Moller RS, Ullmann R, Kapur R, Pinkel D, Cooper GM, Ventura M, Ropers HH, Tommerup N, Eichler EE, Bellanne-Chantelot C. Recurrent reciprocal genomic rearrangements of 17q12 are associated with renal disease, diabetes, and epilepsy. *Am J Hum Genet* 2007 November;81(5):1057-69.
- (13) Faguer S, Chassaing N, Bandin F, Prouheze C, Arveiler B, Rooryck C, Nogier MB, Chauveau D, Calvas P, Decramer S. A 17q12 chromosomal duplication associated with renal disease and esophageal atresia. *Eur J Med Genet* 2011 July;54(4):e437-e440.
- (14) Giglio S, Contini E, Toni S, Pela I. Growth hormone therapy-related hyperglycaemia in a boy with renal cystic hypodysplasia and a new mutation of the HNF1 beta gene. *Nephrol Dial Transplant* 2010 September;25(9):3116-9.
- (15) Edghill EL, Oram RA, Owens M, Stals KL, Harries LW, Hattersley AT, Ellard S, Bingham C. Hepatocyte nuclear factor-1beta gene deletions--a common cause of renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2008 February;23(2):627-35.
- (16) Faguer S, Decramer S, Devuyst O, Lengele JP, Fournie GJ, Chauveau D. Expression of renal cystic genes in patients with HNF1B mutations. *Nephron Clin Pract* 2012;120(2):c71-c78.