



## Resúmenes de las comunicaciones presentadas al 5º Congreso de la Sociedad Gallega de Nefrología. Póster

### Estudio proteómico diferencial asociado a poliquistosis renal autosómica dominante en modelos embrionarios de ratón

Vanesa Calviño Louzao<sup>1</sup>, Adrián Cordido<sup>1</sup>,  
Marta Vizoso González<sup>1</sup>, Susana Bravo<sup>2</sup>,  
Cándido Díaz Rodríguez<sup>3</sup>, Miguel A. García-González<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Genética y Desarrollo de Enfermedades Renales, Instituto de Investigaciones Sanitarias de Santiago (IDIS), Santiago de Compostela, A Coruña, España

<sup>2</sup>Unidad de Proteómica, Instituto de Investigaciones Sanitarias de Santiago (IDIS), Santiago de Compostela, A Coruña, España

<sup>3</sup>Servicio de Nefrología, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago (CHUS), Santiago de Compostela, A Coruña, España

<sup>4</sup>Laboratorio de Genética y Desarrollo de Enfermedades Renales, Instituto de Investigaciones Sanitarias de Santiago (IDIS)-Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica, Santiago de Compostela, A Coruña, España

**Introducción:** La poliquistosis renal autosómica dominante (PQRAD) es una enfermedad genética que cursa con formación de quistes a lo largo de las nefronas y que pueden dar lugar a fallo renal. Está asociada a otras manifestaciones extrarrenales, como la formación de quistes hepáticos o pancreáticos, aneurismas, etc. La PQRAD está causada por mutaciones en los genes PKD1, PKD2 y GANA $\beta$ . Las variantes homocigotas en los genes PKD1 y PKD2 son incompatibles con la vida, por lo que el estudio en edades embrionarias podría ser de utilidad para conocer los mecanismos moleculares implicados en el inicio de la formación del quiste.

**Materiales y métodos:** Se extrajeron los riñones de embriones a día 15,5 y 16,5 de dos modelos animales de PQRAD con mutaciones germinales en los genes PKD1 (PKD1<sup>del2-4</sup>) y PKD2 (PKD2<sup>711-13</sup>). A estas edades embrionarias se empiezan a formar quistes renales y en edades posteriores la mortalidad de los mutantes es muy elevada, no sobreviviendo al nacimiento. Se realizó un estudio combinado de dos tecnologías de espectrometría de masas: LC-MALDI mediante un MALDI TOF-TOF 4800 y LC-MS/MS mediante un MALDI-TripleTOF 6600 de mayor sensibilidad y se identificó el proteoma diferencial de dobles mutantes y de ratones sanos y las vías en las que están implicadas mediante la herramienta bioinformática Reactome.

0211-6995/

**Resultados:** Hemos analizado el proteoma diferencial de riñones de embriones mutantes vs. sanos, e identificado así posibles proteínas candidatas implicadas en citogénesis. En el modelo de PKD1 hemos identificado una proteína en E15,5 y 6 en E16,5 y en el modelo de PKD2, 2 proteínas en E15,5 y 19 en E16,5 que solo son detectadas en los dobles mutantes. También hemos identificado 37 proteínas en PKD1 E15,5; 20 en PKD1 E16,5; 20 en PKD2 E15,5 y 5 en PKD2 E16,5 que solo son detectadas en los individuos sanos. Se analizaron los procesos biológicos de estas proteínas y se vio que estaban implicadas en diferentes vías, como metabolismo, transducción de señales, transcripción y sistema inmune pero que también lo estaban en otras vías, como biología del desarrollo, transporte mediado por vesículas, hemostasis, ciclo celular, etc.

**Conclusiones:** Nuestros resultados permitirán conocer mejor los mecanismos moleculares implicados en los procesos de citogénesis, así como identificar posibles dianas terapéuticas dirigidas a evitar la formación quística.

<https://doi.org/10.1016/j.nefro.2018.12.011>

### Bioimpresión 3D de pseudonefronas como un modelo para el estudio de la poliquistosis renal

Vanesa Calviño Louzao<sup>1</sup>, Carmen R. Tubio<sup>2</sup>,  
Cándido Díaz Rodríguez<sup>3</sup>, Francisco Guitián<sup>2</sup>, Álvaro Gil<sup>2</sup>,  
Miguel A. García-González<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Genética y Desarrollo de Enfermedades Renales, Instituto de Investigaciones Sanitarias de Santiago (IDIS), Santiago de Compostela, A Coruña, España

<sup>2</sup>Instituto de Cerámica, Universidad de Santiago de Compostela, Campus Vida, Santiago de Compostela, A Coruña, España

<sup>3</sup>Servicio de Nefrología, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago (CHUS), Santiago de Compostela, A Coruña, España

<sup>4</sup>Laboratorio de Genética y Desarrollo de Enfermedades Renales, Instituto de Investigaciones Sanitarias de Santiago (IDIS)-Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica, Santiago de Compostela, A Coruña, España

**Introducción:** La poliquistosis renal autosómica dominante es un grupo de enfermedades genéticas que causa fallo renal y que está caracterizada por la presencia de múltiples quistes a

lo largo de la nefrona. Está asociada con otras manifestaciones extrarrenales (formación de quistes hepáticos o pancreáticos, aneurismas, etc.). Hasta el momento, los modelos *in vitro* para el estudio de la poliquistosis consisten en cultivos celulares en monocapa o en el interior de matrices. Es esencial un modelo de cultivo *in vitro* que reproduzca con mayor precisión las condiciones *in vivo*, tales como la forma y la disposición celular, uniones célula-célula o célula-matriz extracelular, y que permita aplicar flujo.

**Materiales y métodos:** Utilizando la tecnología de bioimpresión 3D creamos una estructura tubular en la que poder someter a células epiteliales renales a un flujo, mimetizando así el ambiente de una nefrona. Este modelo consiste en la creación de un canal embebido en una matriz por impresión de filamentos de una biotinta sacrificable (con o sin células epiteliales). Esta biotinta sacrificable es un material que va a ser eliminado con el tiempo, lo que conforma un canal hueco dentro de la matriz donde las células pueden crecer. Mediante la bioimpresión 3D será posible imprimir canales con diferentes tipos celulares y morfología, mimetizando así los diferentes segmentos de la nefrona.

**Resultados:** Esta técnica nos permite replicar pseudonefros para monitorizar diferentes mecanismos relacionados a la detección del flujo por las células y la orientación celular. Hemos desarrollado un dispositivo por impresión 3D donde poder aplicar un flujo controlado a través de estos canales. Hemos estudiado las concentraciones óptimas para preparar diversas biotintas (gelatina, alginato) y matrices (colágeno, gelatina) que mejoren la resolución de la bioimpresión y la viabilidad celular.

Hemos conseguido que las células epiteliales desarrollen el cilio primario en el interior de los canales sin necesidad de serodeprivar las células (lo cual sí es necesario en un cultivo en monocapa), independientemente de la biotinta o matriz que se use.

Con este modelo *in vitro* se ha sometido a las células a un flujo de 100  $\mu$ l/min (similar al del túbulo proximal) durante un día y no se han observado diferencias en la disposición de las células epiteliales, lo que sí se observa cuando las células endoteliales están sometidas a flujo.

**Conclusiones:** Este nuevo modelo nos permitirá estudiar los mecanismos moleculares implicados en la cistogénesis, en un contexto donde se puede aplicar flujo y que mimetice más fielmente las condiciones *in vivo*.

<https://doi.org/10.1016/j.nefro.2018.12.012>

## New targets for renal and hepatic cystogenesis. The help of proteomic in the understanding of ADPKD

Marta Vizoso-González<sup>1</sup>, Adrián Cordido<sup>1</sup>,  
Vanessa Calviño-Louzao<sup>1</sup>, Cándido Díaz<sup>2</sup>, Susana Bravo<sup>3</sup>,  
Miguel A. García-González<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Nephrology Laboratory, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago, Santiago de Compostela, A Coruña, Spain

<sup>2</sup> Nephrology Department, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (CHUS), Santiago de Compostela, A Coruña, Spain

<sup>3</sup> Proteomic Unit, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago, Santiago de Compostela, A Coruña, Spain

<sup>4</sup> Nephrology Laboratory, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela - Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica, Santiago de Compostela, A Coruña, Spain

**Introduction:** Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD) is the most common monogenic disorder characterized by developing fluid-filled cyst derived from the tubule epithelial cells in kidney, and several extrarenal manifestations as hepatic cysts (Polycystic Liver Disease [PLD]). Different mechanisms have been related to the pathogenesis of renal and hepatic cystogenesis. The identification of the main cystogenic pathway has not been found, and effective therapeutic approach to block cystogenesis remains undiscovered.

**Method:** We have recollected kidney and livers from *Pkd1<sup>cond/cond</sup> TamCre* mice. This model presents a cystogenesis developmental window, because the inactivation of *Pkd1* gene in different points of life determines cystic phenotype. We inactivated *Pkd1* at postnatal day 10/11 (cystic window) and postnatal day 15/16 (non-cystic window), which led us to study the differences between wild-type and mutant mice. Finally, we sacrificed them at postnatal day 30. Liver and kidney protein were extracted and the proteome was sequenced using mass spectrometry MALDI-TOF. Finally, we used bioinformatics tools to identified the proteins and pathways involved in cystogenesis. By proteomic approaches, we described novel list of proteins implicated in renal and hepatic cystogenesis (up and down regulated), which are likely to be used as therapeutic targets.

**Results:** We have identified the renal and hepatic proteome of cysts from a good characterized animal model in the ADPKD field, the *Pkd1<sup>cond/cond</sup> TamCre* mice. After comparing the different samples (kidney and liver), cystic and non-cystic, we have identified a list of proteins directly implicated in the process of cystogenesis. Related to liver, we found 26 proteins that appear only on cystic samples and 8 that not appear. However in kidney, we recognized 16 proteins that appear only on cystics and 6 that not appear on them.

Also, we studied the pathways related to these proteins to enlarge the understanding of molecular basis of renal and hepatic cystogenesis. We found that, in both cases, main altered pathways are immune system, signal transduction, metabolism and metabolism of proteins. Moreover, there are more specific pathways; vesicle-mediated transport and cell cycle in liver, in contrast to developmental biology and extracellular matrix organization in kidney.