

Cistinuria: clinica, biologia molecolare ed elettrofisiologia

A. Pica¹, A. La Manna¹, F. Lang², G.B. Capasso¹

¹ Cattedra di Nefrologia, Dipartimento di Pediatria, Seconda Università di Napoli e Dipartimento di Fisiologia, Napoli (Italy)

² Eberhard-Karls University, Tuebingen (Germany)

Riassunto

La cistinuria è una malattia ereditaria, che si trasmette con modalità autosomica recessiva. Alla base della malattia esiste un difetto di trasporto degli aminoacidi dibasici e della cistina attraverso la membrana delle cellule tubulari. Nell'uomo è stato individuato un gene, l'SLC3A1, localizzato a livello del braccio corto del cromosoma 2, il quale codifica per una proteina, l'r-Bat, che è stato dimostrato essere un trasportatore sodio-indipendente ad alta affinità per la cistina e gli aminoacidi neutri. Numerose evidenze sperimentali indicano l'SLC3A1 come un gene coinvolto nella patogenesi della cistinuria di tipo I. Recentemente abbiamo studiato un gruppo di pazienti cistinurici in cui sono state individuate, mediante SSCP, tre mutazioni puntiformi nel gene dell'r-Bat: M467T, F468S e Y582H. Il cRNA ottenuto dal gene mutato è stato introdotto negli oociti di *Xenopus Laevis* per lo studio funzionale, avvalendosi della metodica del dual electrode voltage clamp.

In oociti in cui è stato iniettato il gene con la mutazione M467T sono state registrate alterazioni elettriche della membrana soltanto dopo sette giorni dall'iniezione del cRNA. Quando è stato fatto esprimere il gene con la mutazione F468S si sono registrate marcate alterazioni del trasporto degli aminoacidi, mentre non si è avuto nessun cambiamento rispetto al controllo nel caso della mutazione Y582H. Questi dati dimostrano che differenti mutazioni nel gene dell'r-Bat determinano differenti caratteristiche funzionali del carrier. Inoltre non necessariamente una mutazione del gene induce un'alterazione del trasporto degli aminoacidi, dal momento che la mutazione Y582H non è associata ad alterazioni funzionali del carrier. Quest'ultimo dato indica che il gene dell'r-Bat non è l'unico gene coinvolto nella patogenesi della cistinuria. Molto interessante risulta inoltre la mutazione M467T, in cui il difetto di trasporto della proteina mutante potrebbe dipendere da un rallentato accumulo o assemblaggio della proteina nel reticolo endoplasmatico.

PAROLE CHIAVE: Cistinuria, Calcoli di cistina, r-Bat, SLC3A1, Voltage Clamp

Cystinuria: clinical aspects, molecular biology and electrophysiology

ABSTRACT: Cystinuria is an autosomal recessive disorder caused by defective transport of dibasic and neutral amino acids in the renal tubule. Patients develop cysteine calculi generally during the second or third decade of life. There is evidence indicating that mutations in the SLC3A1 gene (r-Bat) located on the short arm of chromosome 2, are associated with cystinuria. Three phenotypes of cystinuria have been described: type I, II, and III. Mutational and linkage analysis demonstrated that SLC3A1 gene is responsible for type I but not for type II or III cystinuria. Recently we studied a group of cystinuric patients in whom we found three mutations in the SLC3A1 gene by SSCP: M467T, F468S, and Y582H. We functionally studied these mutations by voltage clamp. *Xenopus Laevis* oocytes were injected with cRNA from mutated r-Bat genes of patients. In oocytes expressing r-Bat point mutated at position 467 (M467T) the time required to approach maximal current was delayed only after seven days from cRNA injection. In oocytes expressing r-Bat point mutated at position 468 (F468S) there was a markedly reduced current through the cell membrane, while no abnormality was recorded for Y582H mutation. In conclusion, r-Bat (SLC3A1) is not the only gene involved in the pathogenesis of cystinuria since, mutations of this gene from cystinuric patients do not necessarily reflect a defective carrier. Moreover, mutations of r-Bat are associated only with cystinuria type I and not type II or III. (*Giorn It Nefrol* 1999; 16: 252-8)

KEY WORDS: Cystinuria, Cystine calculi, r-Bat, SLC3A1, Voltage Clamp