

ESTUDIO GENÉTICO-MOLECULAR DE LA HIPOMAGNESEMIA FAMILIAR CON HIPERCALCIURIA Y NEFROCALCINOSIS (HFHNC). SOLICITUD DE COLABORACION

Apreciado compañero/a,

Como probablemente ya conoces, en el grupo de Fisiopatología Renal del Instituto de Investigación de nuestro hospital (Vall d'Hebron Institut de Recerca –VHIR-) estamos trabajando en un proyecto titulado *"Ultrasecuenciación de mRNA y microRNAs en exosomas de pacientes con Hipomagnesemia hipercalcúria y nefrocalcinosis familiar con mutaciones identificadas en el gen CLDN19"* liderado por la Dra. Gema Ariceta y la Dra. Anna Meseguer, y que está englobado dentro del proyecto Renaltube (www.renaltube.com)

Se trata de un proyecto de investigación financiado tanto por el Instituto de Salud Carlos III (FIS FI14_01107) como parcialmente por HIPOFAM (www.hipofam.org), la asociación de pacientes con hipomagnesemia familiar, que fomenta y apoya activamente la investigación en su enfermedad.

Este proyecto tiene como objetivo dilucidar qué mecanismos pueden modular la expresión clínica y la progresión de la hipomagnesemia familiar con hipercalcúria y nefrocalcinosis (HFHNC) en pacientes con diagnóstico genético confirmado. Entre las pruebas que realizaremos se incluye la secuenciación de genes potencialmente modificadores del fenotipo y el análisis de expresión de microRNAs en exosomas urinarios y circulantes en suero. De un modo simple queremos comparar pacientes con historia de progresión a la enfermedad renal crónica rápida o severa con otros con afectación lenta o menos grave, incluyendo trasplantados renales o no trasplantados, y también pacientes con o sin afectación ocular. Para ello analizaremos distintos factores genéticos y marcadores en muestras de sangre, en suero y orina, de modo transversal. Así mismo nos gustaría estudiar algunos pacientes controles sanos, sin la enfermedad, pero con una dotación genética similar, por lo que estamos interesados en estudiar a los hermanos no afectados de los pacientes, en el caso de que fuera posible.

Debido que se trata de una enfermedad rara o minoritaria, se precisa del mayor número posible de pacientes, y también controles, para obtener unos resultados robustos. Por ello, solicitamos tu colaboración en reclutar pacientes para el estudio y para la obtención de muestras, que esperamos puedas combinar con las extracciones que necesitan estos pacientes en su control clínico.

Intentaremos facilitar en lo posible este proceso encargándonos de la logística de la recogida de muestras en tu propio centro y de su transporte, que será libre de coste. Así mismo y para facilitar el envío hemos comprobado la eficacia de estudiar las muestras procesadas a temperatura ambiente, si bien es deseable que se envíen lo antes posible.

Una diferencia importante en el caso de los pacientes trasplantados es que no vamos a recoger orina (la expresión de microRNAs no corresponde al propio individuo), sino únicamente muestras de sangre y suero. En el resto de los pacientes y también en los controles sanos, sí precisamos orina (puede corresponder a orina que se recoja el mismo día de la consulta o en domicilio el día previo), aunque el volumen necesario es elevado (la razón es que la cantidad de exosomas que se pueden obtener en orinas tan diluidas como las que presentan estos pacientes es muy baja).

¿Quién puede incluirse en el estudio y que documentos y muestras biológicas son necesarias?

La inclusión del paciente al ESTUDIO GENÉTICO-MOLECULAR DE LA HIPOMAGNESEMIA FAMILIAR CON HIPERCALCIURIA Y NEFROCALCINOSIS requiere del diagnóstico genético confirmado de HFHNC y de los siguientes documentos:

- 1) documento de Consentimiento Informado del paciente o de sus tutores, y del documento de Asentimiento para los pacientes entre los 12-18 años de edad.
- 2) copia del documento con el diagnóstico genético del paciente
- 3) una ficha sencilla de información clínica del paciente, que se detalla en el Anexo 2
- 4) en lo posible (no es indispensable), una copia impresa de los datos del paciente en la plataforma RenalTube (si tiene más de un control, una copia de cada uno de ellos)
- 5) una copia del último control analítico con el tratamiento actual del paciente. Si además nos pudieras facilitar un breve informe sobre el estado clínico del paciente, te estaríamos muy agradecidos, aunque no es indispensable.
- 6) el material biológico necesario para llevar a cabo el estudio se obtendrá a partir de muestras de sangre y orina de los pacientes, tal y como se especifica en el Anexo 1.

En el caso de que fuera UN CONTROL SANO, únicamente solicitamos que nos envíes los documentos de consentimiento informado /asentimiento, así como una copia de su analítica.

Es preferible que nos informes con 3 días de antelación antes de la obtención de las muestras para poder gestionar el envío de las muestras por mensajería y enviarte nuevamente una copia

de los documentos de *Consentimiento Informado* y Asentimiento, y la *Ficha de información clínica* por correo electrónico. No obstante si no hubieras podido contactar antes, llámanos por favor cuanto obtengas las muestras y agilizaremos la recogida de las mismas.

El protocolo de recogida de las muestras será el siguiente:

1. Avisar preferiblemente 3 días antes de la extracción de muestras a las personas de contacto en el VHIR. La persona a contactar es Mónica Valls Tel. 93 274 62 00 e-mail: monica.vall@vhir.org . No obstante, ante cualquier duda o falta de respuesta, contactar siempre con alguna de las otras dos investigadoras.
2. Facilitar nombre, teléfono y localización de la persona que entregará las muestras al mensajero.
3. Extracción y procesamiento de las muestras de sangre y recogida de la orina según el protocolo indicado en el Anexo 1.
4. **Guardar las muestras a 4°C (EN NEVERA NO EN CONGELADOR) hasta la llegada del mensajero.**
5. Recogida de los datos clínicos y cumplimentación de la Ficha de información clínica (Anexo 2). Impresión de los datos del paciente desde la plataforma RenalTube.
6. El mismo día de la obtención de las muestras, el centro proveedor recibirá un mensajero con el contenedor adecuado para el transporte de las mismas a 4°C.
7. A la llegada del mensajero, introducir las muestras de sangre, suero y orina en el contenedor para que el envío de vuelta al VHIR se realice de forma inmediata.

- Qué deberá incluir el paquete de envío:

- ✓ **Consentimiento/Asentimiento informado debidamente rellenado y firmado.**
- ✓ **1 tubo de sangre con EDTA** (especificaciones detalladas en el anexo 1).
- ✓ **1 tubo de suero** (especificaciones detalladas en el anexo 1).
- ✓ **5 botes de 100mL de orina (mínimo 3)** (especificaciones detalladas en el anexo 1).
- ✓ **Ficha de información clínica completa** (Anexo 2).
- ✓ **Impresión de la ficha del paciente de la plataforma RenalTube (diagnóstico y seguimiento)** (no en los controles)
- ✓ **Último control analítico y el tratamiento actual del paciente.**

Las muestras se recibirán en el laboratorio de Fisiopatología Renal del Vall d'Hebron Institut de Recerca, cuya dirección ya figurará en la caja que os haremos llegar.



Mònica Vall Palomar
Vall d'Hebron Institut de Recerca
Edifici Mediterrània
Planta 1, Laboratorio 116 – 117
Paseo Vall d'Hebron, 119-129
08035 BARCELONA

Estamos a tu disposición para cualquier consulta o aclaración.

Muchas gracias por tu colaboración y esperamos obtener resultados importantes para el conocimiento de esta enfermedad, que permitan avanzar en su tratamiento.

Recibe un cordial saludo,

Dra. Gema Ariceta
Jefa de Servicio de Nefrología Pediátrica
Hospital Vall d'Hebron
Passeig Vall d'Hebron, 119-129
08035 Barcelona
Tel. 93 489 30 82
E-mail: gariceta@vhebron.net

Dra. Anna Meseguer
Jefa de grupo de Fisiopatología Renal
CIBBIM Nanomedicina
Vall d'Hebron Institut de Recerca
Passeig Vall d'Hebron, 119-129
08035 Barcelona
Tel. 93 489 40 61
E-mail: ana.meseguer@vhir.org

Mònica Vall Palomar
Vall d'Hebron Institut de Recerca
Passeig Vall d'Hebron, 119-129
08035 Barcelona
Tel. 93 274 62 00
E-mail: monica.vall@vhir.org

ANEXO 1: Recogida de muestras biológicas

- Qué muestras deben ser recogidas:

- ✓ **ORINA**: 500mL → 5 botes de tapa roja de 100mL llenos.
(Mínimo 300mL: 3 botes)



Comprobar que los botes están correctamente cerrados

La orina se mantendrá en nevera a 4°C –no congelada- hasta que llegue el mensajero, pero puede haberse recogido a temperatura ambiente el mismo día de la consulta o el día previo. Es importante detallar que la pérdida de orina en algunas micciones no invalida la muestra ya que lo importante es que el volumen total sea el indicado)

- ✓ **SANGRE**: volumen en función del peso del paciente.

- **1 TUBO CON EDTA**:

- <10Kg: 2-4mL de sangre
- 10-20Kg: 4mL de sangre
- >20Kg: 4-8 mL de sangre



- **1 TUBO CON GEL SEPARADOR**: [vacutainer tapón **ORO**] para obtención de suero.

- <10Kg: 2-4mL de sangre
- 10-20Kg: 4mL de sangre
- >20Kg: 4-8 mL de sangre



IMPORTANTE: tras la extracción se deberá centrifugar el tubo durante 15 minutos a 1.500 x g a temperatura ambiente **y traspasar el suero (fase superior) a un tubo nuevo** sin conservantes.

GUARDAR A 4°C HASTA REALIZAR EL ENVÍO EL MISMO DÍA DE LA EXTRACCIÓN

NO CONGELAR !!!



Vall d'Hebron

Institut de Recerca

ANEXO 2: Ficha de información clínica



Marcar con una X las casillas correspondientes y rellenar los campos marcados con una línea.

- INICIALES del paciente y número de historia clínica: _____
- Sexo del paciente: ☐ Hombre ☐ Mujer
- Fecha de nacimiento: _____ Peso actual _____ Talla actual _____
- ¿Tiene algún familiar afectado de HFHNC?: ☐ Sí. Especificar: _____ ☐ No
- Fecha de diagnóstico de HFHNC: _____ ☐ No afecto es un control sano
- ¿Ha precisado diálisis?: ☐ Sí. Fecha de inicio: _____ ☐ No
- ¿Ha precisado trasplante renal?: ☐ Sí. Fecha: _____ ☐ No
- ¿Ha tenido más de un tiempo de diálisis o trasplante renal? ☐ Sí. Fechas: _____ ☐ No
- ¿Ha sido ingresado por infecciones urinarias)? ☐ Sí. (Indique número: _____ ☐ No
- ¿Presenta algún tipo de afectación ocular? ☐ No ☐ Sí.

Especificar: _____

Evolución de la creatinina anual y del filtrado glomerular (FG) desde el diagnóstico: (indique con una D si precisó diálisis, y con Tx si recibió un trasplante renal)

Método de cálculo usado: ☐ Ccr (Aclaramiento de creatinina) ☐ eGFR (*glomerular filtration rate*)

	Al diagnóstico	1er año	2º año	3er año	4º año	5º año	6º año	7º año	8º año	9º año	10º año
Cr mg/dL											
FG											

Si hay más años de seguimiento, anotar los datos correspondientes.