

ACIDOSIS TUBULAR RENAL DISTAL CON SORDERA CAUSADA POR MUTACIONES EN EL GEN *ATP6V1B1*

DISTAL RENAL TUBULAR ACIDOSIS WITH DEAFNESS CAUSED BY MUTATIONS IN THE *ATP6V1B1* GENE

TRABAJO DE FIN DE GRADO (TFG)

ALUMNO
VÍCTOR GERMÁN GONZÁLEZ GONZÁLEZ

TUTORAS
MARÍA DEL MAR DEL PINO YANES Y ELENA MARTÍN GONZÁLEZ

ABREVIATURAS

<i>ATP6V1B1</i>	ATPasa transportadora de H ⁺ V1 subunidad B1
<i>ATP6V0A4</i>	ATPasa transportadora de H ⁺ V0 subunidad A4
<i>FOX11</i>	Caja de horquilla I1
<i>WDR72</i>	Dominio de repetición WD72
<i>SLC4</i>	Miembro 1 de la familia 4 de transportadores de soluto
<i>ATRd</i>	Acidosis tubular renal distal
<i>AVD</i>	Acueducto vestibular dilatado
<i>DIN</i>	Diabetes insípida nefrogénica
<i>HN</i>	Hipoacusia neurosensorial
<i>HFHNC</i>	Hipomagnesemia familiar con hipercalciuria y nefrocalcinosis
<i>PAN</i>	Pérdida auditiva neurosensorial
<i>SSp</i>	Síndrome de Sjögren primario

ÍNDICE

1. Resumen	1
2. Abstract	2
3. Introducción	3
3.1. Definición de acidosis tubular renal distal.....	3
3.2. Diagnóstico y tratamiento de la acidosis tubular renal distal	4
3.3. Tipos de acidosis tubular renal distal y su diagnóstico diferencial en función de los genes afectados	6
3.3.1. Gen <i>ATP6V1B1</i>	7
4. Objetivo	7
5. Material y Métodos	7
6. Resultados y Discusión	8
6.1 Características demográficas y clínicas de los estudios analizados.....	8
6.2. Tipos de mutaciones encontradas en los estudios analizados.....	8
6.3. Técnicas genéticas empleadas en la identificación y análisis de mutaciones del gen <i>ATP6V1B1</i>	12
6.3.1. <i>Secuenciación Sanger</i>	12
6.3.2. <i>Secuenciación de nueva generación</i>	15
6.3.3. <i>Ensayos funcionales de procesamiento del ARNm</i>	16
6.4. Mutaciones comunes en el gen <i>ATP6V1B1</i> entre diferentes estudios y características clínicas asociadas.....	17
6.5. Estudios genéticos centrados en los genes <i>ATP6V1B1</i> y <i>ATP6V0A4</i>	18
6.6. Enfermedad renal crónica (ERC)	19
6.7. Riñón medular esponjoso (RMS)	20
6.8. Diabetes insípida nefrogénica (DIN)	20
6.9. Síndrome de Sjögren primario (SSp)	21
6.10. Nefrocalcinosis y nefrolitiasis	21
6.11. SNHL acompañada de acueducto vestibular agrandado (AVD).....	22
6.12. Perspectivas futuras	22
7. Conclusiones	23
8. Conclusions	23
9. Bibliografía	24

1. Resumen

La acidosis tubular renal distal (ATRd) es una enfermedad rara caracterizada por una disminución de la secreción neta de ácido por parte del túbulo distal que provoca una acidosis metabólica hiperclorémica. Esta enfermedad puede ser heredada o adquirida. La ATRd hereditaria se manifiesta típicamente en la infancia con retraso del crecimiento, aunque también pueden ocurrir presentaciones posteriores. Las complicaciones renales de la ATRd incluyen nefrocalcinosis, nefrolitiasis, quistes medulares y deterioro de la función renal. Las manifestaciones adicionales pueden incluir, según el gen implicado: desmineralización ósea (raquitismo, osteomalacia), deficiencia del crecimiento, hipoacusia neurosensorial (en pacientes con variantes patogénicas en los genes *ATP6V0A4* y *ATP6V1B1*). El diagnóstico de la ATRd hereditaria se establece en pacientes con ATRd y variantes patogénicas bialélicas en *ATP6V0A4*, *ATP6V1B1*, *FOX11* o *WDR72* (genes con patrón de herencia autosómico recesivo), o variantes patogénicas monoalélicas o bialélicas en *SLC4A1* (patrón de herencia autosómico recesivo y dominante). En los estudios realizados hasta la fecha, estas variantes se han detectado empleando secuenciación de Sanger, RT-PCR o secuenciación del exoma, analizando pacientes que presentaban síntomas de ATRd asociada a una sordera neurosensorial progresiva. Estos trabajos han incluido una amplia representación de grupos de edad, desde la niñez hasta la etapa adulta, y poblaciones a nivel mundial, proporcionando información que podría mejorar el manejo y tratamiento de la enfermedad de los pacientes con ATRd.

Palabras clave: *acidosis tubular renal distal, ATP6V1B1, nefrocalcinosis, autosómico recesivo.*

2. Abstract

Distal renal tubular acidosis (dRTA) is a rare disease characterized by decreased net acid secretion by the distal tubule resulting in hyperchloremic metabolic acidosis. This disease can be inherited or acquired. Individuals with inherited dRTA typically present in childhood with growth retardation, although later presentations may occur. Renal complications of dRTA include nephrocalcinosis, nephrolithiasis, medullary cysts, and impaired renal function. Additional manifestations may include, depending on the gene involved: bone demineralization (rickets, osteomalacia), growth deficiency, and sensorineural hearing loss (in patients with pathogenic variants in the *ATP6V0A4* and *ATP6V1B1* genes). The diagnosis of hereditary dRTA is established in patients with dRTA and pathogenic bi-allelic variants in *ATP6V0A4*, *ATP6V1B1*, *FOX11* or *WDR72* (genes with autosomal recessive inheritance pattern), or monoallelic or bi-allelic pathogenic variants in *SLC4A1* (autosomal recessive and dominant inheritance pattern). In the studies carried out to date, these variants have been detected using Sanger sequencing, RT-PCR or exome sequencing, analyzing patients who presented symptoms of dRTA associated with progressive sensorineural deafness. These studies have included a wide representation of age groups, from childhood to adulthood, and populations worldwide providing insights that could improve the disease management and treatment of patients with dRTA.

Keywords: *distal renal tubular acidosis, ATP6V1B1, nephrocalcinosis, autosomal recessive.*

3. Introducción

3.1. Definición de acidosis tubular renal distal

La acidosis tubular renal distal (ATRD) es una enfermedad rara que ocurre cuando los riñones no filtran correctamente los ácidos desde la sangre hacia la orina. Este defecto renal conduce a una acumulación de ácido en la sangre, generando así una acidosis. Si este ácido no se elimina o se neutraliza, la sangre se vuelve demasiado ácida. Esto podría conllevar a una serie de consecuencias graves, como el desequilibrio electrolítico en el aparato circulatorio y la afección de algunas células (1-3).

Esta enfermedad rara presenta una variabilidad de síntomas tales como: confusión o disminución de la lucidez mental, fatiga, deficiencia en el crecimiento en niños, aumento de la frecuencia respiratoria, cálculos renales, abundante calcio depositado en los riñones (nefrocalcinosis), ablandamiento de los huesos (osteomalacia) y calambres o debilidad muscular, así como dolores óseos y de espalda (1-3). Concretamente, la nefrocalcinosis de la ATRd es muy precoz y se produce por la asociación con un exceso de calcio en la orina (hipercalciuria) y una baja concentración de ácido cítrico en la orina (hipocitraturia). Estos pacientes también podrían padecer de cálculos renales (urolitiasis), aunque su manifestación es más tardía y evitable con un tratamiento adecuado.

En aquellas personas que padezcan esta condición se podría experimentar una pérdida de audición o una sordera neurosensorial que es causada por los cambios que se producen en el oído interno, generalmente entre la niñez y la edad adulta (1-3). La mayoría de las personas con este trastorno, y cuya pérdida auditiva comienza en la niñez, sufren una anomalía del oído interno que afecta a ambos oídos. Esta característica, que se denomina acueducto vestibular agrandado, es un canal óseo que va desde el oído interno hasta el hueso temporal del cráneo y hacia el cerebro. Sin embargo, la relación entre la pérdida auditiva y el agrandamiento del acueducto vestibular no es del todo clara (1-3).

La ATRd puede ser heredada o adquirida. Por un lado, la forma hereditaria es causada por mutaciones en genes que codifican o regulan las proteínas implicadas en la acidificación de la orina a nivel de los túbulos distales y colectores (4). Las formas adquiridas son poco frecuentes y pueden derivar de varias afecciones que se encuentran resumidas en la **Tabla 1**, así como por ciertos medicamentos, como la anfotericina B y el litio.

Tabla 1. Resumen de la ATRd causada por varias afecciones (1-3).

Afecciones	Definición
Amiloidosis	Acumulación anormal de proteína amiloide en tejidos y órganos.
Enfermedad de Fabry	Acumulación anormal de glicoesfingolípidos en tejidos y órganos, producido por el déficit del enzima lisosomal α -galactosidasa A.
Alto nivel de calcio en la sangre	Elevación de los niveles de calcio sanguíneos por encima de 10,2 mg/dL.
Anemia falciforme	Trastorno hereditario en el que los glóbulos rojos se endurecen y toman la forma de una hoz o de medialuna.
Síndrome de Sjögren (pSS)	Trastorno autoinmune en el que las glándulas que producen saliva y lágrimas son destruidas.
Lupus eritematoso sistémico	Trastorno autoinmune en el que el sistema inmune ataca a diferentes órganos y tejidos (piel, articulaciones, riñones, pulmones, sistema nervioso, etc.), provocando daño e inflamación.
Enfermedad de Wilson	Trastorno hereditario en el que se acumula el cobre en los tejidos, principalmente en el hígado y tejidos nerviosos.
Síndrome de Gilbert	Trastorno hereditario en el que el hígado no procesa adecuadamente la bilirrubina, generando así un tono amarillento en la piel (ictericia).

3.2. Diagnóstico y tratamiento de la acidosis tubular renal distal

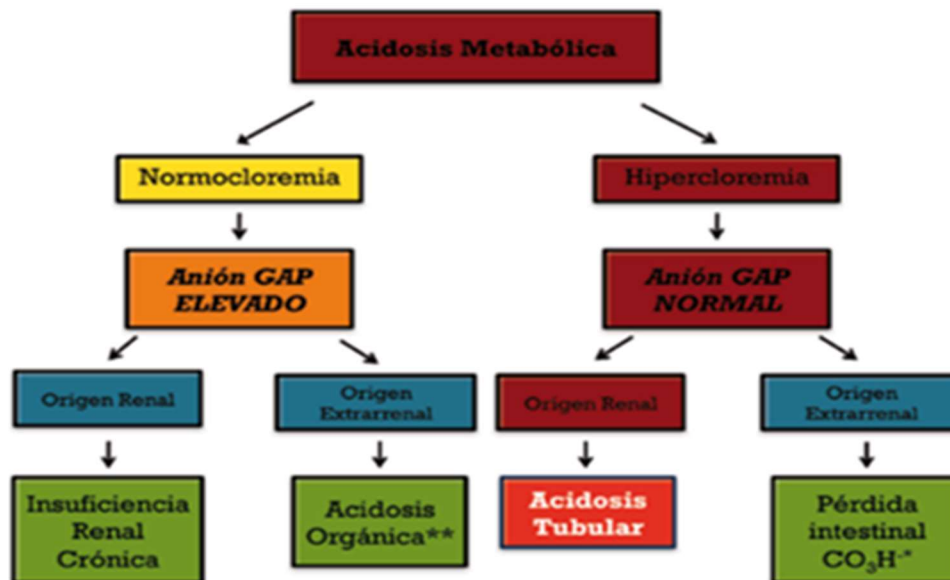
Las pruebas médicas que ayudan a diagnosticar la ATRd (**Tabla 2**) se centran en medir la acidez en sangre u orina. Sin embargo, para detectar la presencia de depósitos de calcio o potasio en los riñones y los cálculos renales se emplean distintas pruebas como radiografías y/o ecografías, prueba de ultrasonido o una tomografía computarizada (1-3).

Tabla 2. Pruebas médicas empleadas en el diagnóstico de la ATRd (1-3).

Prueba médica	Definición
Gasometría arterial y/o venosa	Determinación de la cantidad de oxígeno y de dióxido de carbono que hay en la sangre.
Analítica sanguínea completa	Examen de la sangre en el que se analiza si el metabolismo del individuo presenta la función esperada, proporcionando, entre otros, información del funcionamiento de los riñones e hígado, niveles de glucosa y calcio en sangre y niveles de electrolitos (sodio, potasio y cloruro) y proteínas.
Determinación del pH de la orina	Medida para determinar la acidez de la orina y conocer si ésta es ácida o básica.
Prueba de sobrecarga ácida	Determinación de la capacidad de los riñones para excretar ácido a la orina cuando hay abundante ácido en la sangre.
Prueba de infusión de bicarbonato	Prueba similar a la gasometría, que mide la cantidad total de dióxido de carbono en la sangre, que todo se encuentra en forma de bicarbonato

La ATRd constituye un síndrome clínico de acidosis metabólica hiperclorémica causado por un defecto en la reabsorción renal de bicarbonato y/o en la excreción urinaria del ion hidrógeno (H^+) (5). En los casos más graves, puede acompañarse de

nefrocalcinosis y el desarrollo de diferentes grados de insuficiencia renal, extremos que, posiblemente, son evitables con un diagnóstico y un tratamiento precoz con alcalinizantes, como el citrato potásico (5). En este sentido, un estudio destacó la importancia de evaluar la acidosis metabólica hiperclorémica con o sin hipopotasemia para el diagnóstico precoz de la enfermedad en población pediátrica (5) (**Figura 1**).



* Diarrea, ureterosigmoidostomía, pérdidas pancreáticas o biliares, tratamiento con colestiramina.

** Acidosis láctica, cetoacidosis diabética, cetoacidosis de la inanición, toxicidad por etilenglicol, metanol o salicilatos.

Figura 1. Orientación del diagnóstico de la acidosis metabólica de la infancia. Modificada a partir de Peña et al. (5).

Las tubulopatías son un grupo heterogéneo de entidades definidas por anomalías de la función tubular renal (**Figura 2**) (6-7). Se distinguen las tubulopatías hereditarias o primarias de las secundarias a tóxicos, fármacos u otras enfermedades, por eso pueden ser simples o complejas, según afecten al transporte tubular de una o varias sustancias (6-7).

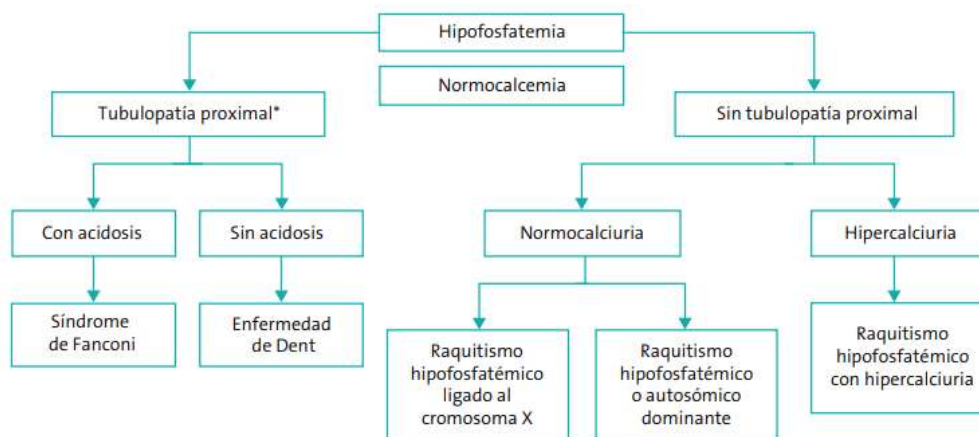


Figura 2. Algoritmo diagnóstico de la hipofosfatemia con normocalcemia. Extraída de Aguirre *et al.* (6-7)

Dado que las complicaciones de la ATRd podrían ser permanentes o potencialmente mortales, el tratamiento resulta vital para conseguir disminuir sus efectos y complicaciones. El objetivo principal del tratamiento de esta patología consiste en intentar restablecer el nivel de ácido normal y el equilibrio electrolítico en el cuerpo (1-3). Esto ayuda a mejorar los trastornos óseos y reducir la acumulación de calcio (nefrocalcinosis) y/o potasio en los riñones, evitando la formación de cálculos renales. Por ello, entre los medicamentos de tipo alcalino comúnmente recetados se incluyen el citrato de potasio (Acalca), el bicarbonato de sodio y los diuréticos tiazídicos (1-3).

3.3. Tipos de acidosis tubular renal distal y su diagnóstico diferencial en función de los genes afectados

La ATRd es una enfermedad muy frecuente en poblaciones pediátricas (1-3). Esto es debido a que estos los pacientes son incapaces de acidificar la orina a un $\text{pH} \leq 5,3$ en presencia de acidosis metabólica. La mayor parte de los casos pediátricos son debidos a defectos de función en los genes *ATP6V0A4* o *ATP6V1B1*, que codifican subunidades de la bomba de protones ATPasa H^+ , los cuales se encuentran en el borde epitelial de las células del tubo colector (3). También se han descrito numerosos pacientes con mutaciones en el gen *SLC4A1*, que codifica el intercambiador de aniones que recupera bicarbonato a través de la membrana basal (1-3). Hay otros genes causales descritos en muy pocos casos (ej. *FOX11* y *WDR72*). En la siguiente tabla (**Tabla 3**) se muestran las características clínicas que permiten realizar un primer diagnóstico diferencial entre estas tres formas de ATRd, debiendo confirmarse con un estudio genético (1-3).

Tabla 3. Características clínicas examinadas en el diagnóstico diferencial entre tres formas diferentes de ATRd en función del gen causante (1-3).

	<i>ATP6V0A4</i>	<i>ATP6V1B1</i>	<i>SLC4A1</i>
Herencia	AR	AR	AR/AD
Edad de presentación	Lactantes	Lactantes	Niños/Adultos
Intensidad de la acidosis	+++	+++	+
Intensidad de la hipopotasemia	++	++	+
Frecuencia de nefrocalcinosis	+++	+++	++
Enfermedades extra-renales frecuentemente asociadas	Sordera neurosensorial (con o sin sordera)	Sordera neurosensorial grave y precoz	Anemia hemolítica en población oriental, según la localización de la variante genética / Nefrocalcinosis
Hipocrecimiento	+++	+++	++
Abreviaturas: AR: autosómica recesiva; AD: autosómica dominante.			

3.3.1. Gen *ATP6V1B1*

El gen *ATP6V1B1* se encuentra ubicado en el cromosoma 2 humano, concretamente en la banda cromosómica 2p13.3 y consta de 15 exones. Asimismo, este gen codifica una subunidad del complejo proteico vacuolar ATPasa, esencial para la acidificación de compartimentos intracelulares como los endosomas y lisosomas (8-11). Esta subunidad B1 está presente en diversos tejidos, pero es crucial en los túbulos renales para mantener el equilibrio ácido-base y el proceso de reabsorción renal. Dado que la mayor parte de los casos de ATRd se deben a mutaciones en *ATP6V1B1*, este trabajo se centrará fundamentalmente en él, aunque también se comentarán algunos trabajos en los que se ha estudiado conjuntamente con el gen *ATP6V0A4* (8-11).

4. Objetivo

Este trabajo tiene como objetivo realizar una revisión bibliográfica sobre la acidosis tubular renal distal con sordera causada por mutaciones en el gen *ATP6V1B1*.

5. Material y Métodos

La búsqueda bibliográfica se ha realizado usando las bases de datos NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) (12), PubMed (13), Google Académico (14) y ResearchGate (15). Las palabras claves empleadas se indican en la **Tabla 4**, combinando el término principal con cada uno de los secundarios.

Tabla 4. Palabras clave empleadas en la búsqueda bibliográfica

Principal	Secundarias
ATRd	<i>ATP6V1B1</i>
	<i>ATP6V0A4</i>
	ATRd con sordera
	Nefrocalcinosis

Para cada uno de los artículos, se extrajo información acerca de la mutación implicada en los pacientes analizados, la clasificación del tipo de mutación, las características clínicas que presentaban los individuos analizados y la población a la que pertenecían, en términos de edad y ascendencia.

6. Resultados y Discusión

En la **Tabla 5** se indica la información resumida que se ha extraído de cada estudio sobre la ATRd.

6.1 Características demográficas y clínicas de los estudios analizados

Como se puede observar en la **Tabla 5**, se han realizado varios estudios con esta patología en distintos lugares del mundo, analizando pacientes de diferentes edades. Sin embargo, la mayoría de los estudios se han centrado en la etapa adulta. Asimismo, la mayor parte de los pacientes incluidos en estas investigaciones eran de origen asiático (42,42%), seguidos por europeos (33,33%) y el resto eran de origen africano (24,25%).

Estos pacientes presentaban en su mayoría ATRd (53,85%), y en algunos casos otras patologías como la nefrocalcinosis (11,54%) y la sordera vinculada a la pérdida auditiva neurosensorial (PAN) (9,62%), seguido de nefrolitiasis (3,85%). También aparecían representados síntomas más leves como la diabetes insípida nefrogénica (DIN), acueducto vestibular dilatado AVD (del inglés *enlarged vestibular aqueduct*), hipomagnesemia familiar con hiper calciuria y nefrocalcinosis (HFHNC), urolitiasis, HN y Síndrome de Sjögren primario (SSp) (1,92% para estos síntomas).

6.2. Tipos de mutaciones encontradas en los estudios analizados

Los tipos de mutaciones que más frecuentemente identificadas en los estudios incluidos en esta revisión fueron no sinónimas de cambio de sentido (35,71%), *splicing* (28,57%) y desplazamiento de la pauta de lectura (19,64%). Aunque también se ha encontrado otros tipos de mutaciones como son: sin sentido (8,93%), y otras variantes sin efecto descrito, de tipo sustitución (1,79%), inserción (3,57%) y delección (1,79%).

Tabla 5. Resumen de los estudios genéticos de la ATRd.

Mutación	Tipo de mutación	Gen cercano	Características clínicas	Tamaño muestral y población diana	Población	Referencia
c.1251C>G	Sin sentido	<i>ATP6V1B1</i>	Nefrocalcinosis	11 adultos	Japonesa	(32)
c.687 G>A / c.785+1 G>A / c.786-1 G>C	<i>Splicing</i>	<i>ATP6V1B1</i>	Nefrocalcinosis	51 adultos	China	(33)
c.1169dupC / c.1155dupC	Cambio de la pauta de lectura	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd y sordera	3 adultos	Marroquí	(24)
c.1181 G>A	Cambio de sentido	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd y sordera	2 adultos	Italiana	(41)
NA	<i>Splicing</i>	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd con diabetes insípida nefrogénica (DIN)	2 niños	Hindú	(42)
A139V (GCG to GTG) / IVS2-1 G>C	Cambio de sentido y <i>splicing</i>	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd y HFHNC	2 niñas	Argelina	(21)
c.91 C>T/ c.123 C>G/ c.541 C>T/ c.1037 C>G	Sin sentido y con cambio de sentido	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd	28 niños	Hindú	(34)
p.I386fs / p.R394Q	<i>Splicing</i>	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd	10 niños	Hindú, hispana, africana y europea	(23)
c.786-1 G>C/ c.1155dupC/c.1356delT	<i>Splicing</i> y con cambio de sentido	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd	6 niños	China	(49)
c.133-134delTG / c.785+1 G>A	Cambio de la pauta de lectura y <i>splicing</i> alternativo	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd con PAN y AVD	1 niño	China	(29)
c.1394 G>A	Cambio de sentido	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd	No especificado	Pakistaní	(22)

1037 C>G / 1155-1156insC / 340 C>T	Sustitución e Inserción	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd con pérdida auditiva y PAN	5 niños	Israelí	(47)
c.242 T>C	Cambio de sentido	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd con pérdida auditiva temprana	2 hermanos	NA	(36)
c.1691+2dup	Cambio de la pauta de lectura	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd	No especificado	Española	(35)
c.1181 G>T, p.(Arg394Gln)	Cambio de sentido	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd y Nefrocalcinosis	340 adultos	29 países	(40)
c.1155dupC/ c.175-1 G>C	Cambio de la pauta de lectura y <i>splicing</i>	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd	16 adultos	Marroquí, argelina y española	(39)
c.1155dupC	Cambio de la pauta de lectura	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd con Nefrolitiasis y Nefrocalcinosis	44 adultos	Marroquí	(25)
R807Q / G820R	Cambio de sentido	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd	2 hermanos	Tailandesa	(45)
c.1228inC/ p.I386Hfs/ g.70960079	Inserción y <i>splicing</i>	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd	27 adultos	Europea	(38)
c.1155dupC/ c.175-1 G>C /c.1102 G>A	Cambio de la pauta de lectura, <i>splicing</i> , cambio de sentido	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd y PAN	25 niños	Tunecina	(20)
c.228 G>T/ c.1356delT/ c.368 G>T	<i>Splicing</i> y Delección	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd	17 niños	Coreana	(44)
c.409 C>T / c.904 C>T	Cambio de sentido	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd	3 niños	China	(43)

c.437 A>G	Cambio de sentido	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd con PAN	1 adulto	Libia	(30)
Varias mutaciones	6 de cambio de sentido, 3 sin sentido, 5 <i>splicing</i> y 5 con cambio	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd	89 adultos	Italiana	(28)
c.409 C>T / c.904 C>T	Cambio de sentido	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd	5 niños	China	(29)
c.368 G>T/ c.370 C>T/ c.484 G>T / c.1102 G>A	<i>Splicing</i>	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd	No especificado	NA	(31)
c.1153 C>A, p.P385T	Cambio de sentido	<i>ATP6V1B1</i>	Nefrocalcinosis y Nefrolitiasis	32 niños	China	(27)
c.[242 T>C] + [242 T>C], (p.Leu81Pro)	Cambio de sentido	<i>ATP6V1B1</i>	ATRd y PAN	4 adultos	Albanesa e italiana	(48)
Abreviaturas: ATRd: acidosis tubular renal distal; AVD: acueducto vestibular dilatado; DIN: diabetes insípida nefrogénica; HFHNC: hipomagnesemia familiar con hipercalcemia y nefrocalcinosis; NA: no aplicable; PAN: pérdida auditiva neurosensorial.						

6.3. Técnicas genéticas empleadas en la identificación y análisis de mutaciones del gen *ATP6V1B1*

Actualmente, existen 58 laboratorios que realizan diagnóstico genético analizando el gen *ATP6V1B1* en Europa (16). En España, existen 18 laboratorios diferentes que analizan este gen.

La técnica que se utiliza generalmente para detectar mutaciones en este gen es la secuenciación de nueva generación (NGS, del inglés *Next Generation Sequencing*), incluyendo la secuenciación completa del exoma (WES, del inglés *Whole Exome Sequencing*), pero también se emplean la secuenciación de Sanger, técnicas basadas en la amplificación de la sonda dependiente de ligandos múltiples (MLPA, del inglés *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) y técnicas basadas en micromatrices (16). Sin embargo, en España solamente se utilizan dos técnicas, la secuenciación de Sanger y la secuenciación NGS (16).

Además de las técnicas de diagnóstico, los estudios analizados en esta revisión también han aplicado la reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscripción (RT-PCR, del inglés *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*). Este método basado en biología molecular genera una gran cantidad de copias de ADN (amplicón) mediante un proceso de amplificación, precedido de una conversión del ARN del individuo a ADN complementario (17). Con ella, entre otras aplicaciones, es posible estudiar las consecuencias de las variantes genéticas en el *splicing* de un gen, analizando si el tamaño del amplicón del paciente es distinto al de individuos sanos, que no presentan la mutación.

La mayoría de los estudios incluidos en esta revisión utilizaron la Secuenciación Sanger (60%) para la detección de mutaciones en el gen *ATP6V1B1*, seguido de NGS (40%). Además, un estudio realizó ensayos funcionales de procesamiento del ARNm.

6.3.1. Secuenciación Sanger

La secuenciación Sanger es un método de secuenciación que consiste en la determinación de la secuencia de nucleótidos de una porción del genoma de un individuo. Utiliza la síntesis química y la detección de fluorescencia tras realizar una electroforesis capilar de un conjunto de fragmentos marcados en cada una de las posiciones la porción de ADN a analizar para determinar así el orden de los nucleótidos dentro de la misma (18). Esta ha sido la técnica más empleada para la identificación de mutaciones en el gen *ATP6V1B1* y cabe destacar que, aplicando este método, diferentes estudios identificaron

mutaciones comunes entre poblaciones marroquíes, chinas, pakistaníes y poblaciones hindúes, hispanas y africanas.

Uno de los estudios se centró en la secuenciación del gen *ATP6V1B1* en una niña de 2 años de origen chino que había sido hospitalizada por hipopotasemia recurrente, acidosis metabólica hiperclorémica y retraso del crecimiento (19). En las pruebas de laboratorio presentaba una brecha aniónica normal, acidosis metabólica hiperclorémica, hipopotasemia y orina alcalina inadecuada, por lo que se confirmó una hipoacusia neurosensorial bilateral moderadamente grave en ambos oídos, acompañada de AVD (19). Por ello, se procedió a realizar un diagnóstico genético secuenciando todas las regiones codificantes del gen *ATP6V1B1*, incluidos los límites-exón que fueron amplificadas mediante PCR. Las variantes de *splicing* detectadas se verificaron en leucocitos de sangre periférica de esta niña mediante RT-PCR (19). Una de las mutaciones supuso una delección de 2 nucleótidos en el exón 2, que causaba un marcado decaimiento del ARNm mediado por un cambio sin sentido. La otra mutación consistió en una sustitución de guanina por adenina en el primer nucleótido del intrón 8 (**Figura 3**), que provocó la exclusión del exón 8. Tras el tratamiento con citrato de sodio, potasio y ácido cítrico, se corrigieron la acidosis metabólica y la hipopotasemia, pero su audición disminuyó gradualmente por lo que tuvo que emplear audífonos bilaterales (19).

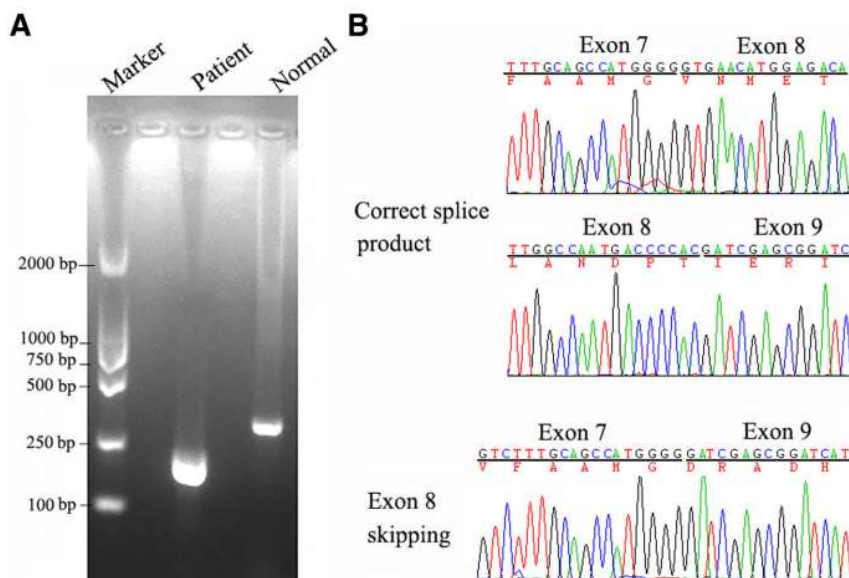


Figura 3. Verificación de la omisión del exón 8 en los leucocitos periféricos de la paciente. El segmento de ADNc que contiene los exones 7, 8, 9 de *ATP6V1B1* se amplificó mediante PCR para analizarlo mediante distintas técnicas. **A)** Electroforesis de los productos de PCR del control, del individuo sano y del paciente. **B)** Electroferograma mostrando los resultados de la secuenciación de los productos de PCR de la persona normal (producto de empalme correcto) o del paciente (omisión del exón 8). Extraída de Zhao *et al.* (19)

Por otro lado, un estudio centrado en individuos tunecinos afectados por ATRd realizó un cribado del gen *ATP6V1B1*, dando lugar a una tasa de detección de mutaciones del 81,25%, que aumentó hasta el 95% tras el análisis del gen *ATP6V0A4* (20). De esta manera, encontraron 3 mutaciones en el gen *ATP6V1B1*, una localizada en el exón 12 y causante de un cambio de sentido; una sustitución de nucleótido de guanina a citosina, en el sitio aceptor del *splicing*, en el intrón 2; y una mutación sinónima en el exón 11 no descrita anteriormente (**Figura 4**) (20).

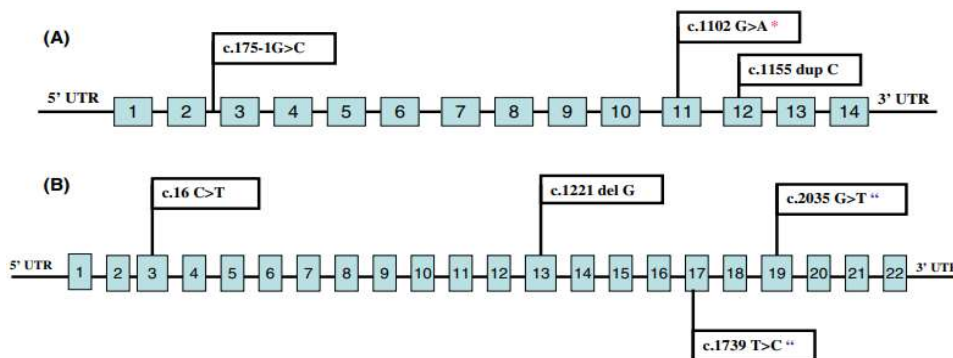


Figura 4. Representación esquemática de los genes *ATP6V1B1* (A) y *ATP6V0A4* (B) con la localización de las mutaciones encontradas en un estudio (24). *Mutación nueva. "Heterocigoto". Extraída de Elhayek *et al.* (20)

Una investigación realizada en dos niñas argelinas que presentaban nefrocalcinosis con distinta etiología, una tenía hipomagnesemia familiar con hipercalciuria y nefrocalcinosis (HFHNC) y la otra presentaba ATRd, intentó dilucidar el diagnóstico de ambas (21). Las etiologías de la nefrocalcinosis de aparición precoz incluyen 5 trastornos hereditarios recesivos principales como, hiperoxaluria primaria, HFHNC, ATRd, raquitismo hipofosfatémico hereditario con hipercalciuria (HHRH) y síndrome de Bartter prenatal (21). Por ello, se analizaron muestras de sangre de ambas pacientes, en las que se extrajo ADN genómico y se realizó la amplificación por PCR de tres marcadores microsatélite en el gen *ATP6V1B1* y otros tres en el gen *CLDN6* en búsqueda de señales de ligamiento con la enfermedad (21). Posteriormente, se realizó la secuenciación de ambos genes, de manera que se pudo determinar la causa de la enfermedad en cada una de las pacientes.

Otro estudio también empleó secuenciación de Sanger para identificar las variantes genéticas subyacentes a la ATRd en pacientes pakistaníes que presentaban

síntomas como deshidratación, vómitos y orina muy alcalina con acidosis metabólica durante los primeros días de vida (22). Las variantes identificadas se analizaron *in silico* mediante programas bioinformáticos para identificar el posible papel funcional de las mismas (22).

En una población hindú, hispana y africana se analizaron 10 niños con ATRd, que presentaban una brecha aniónica (GA) sérica normal, acidosis metabólica con GA urinario positivo simultáneo e incapacidad para acidificar la orina (23). Las posibles mutaciones se confirmaron mediante la correspondiente secuenciación Sanger de cada exón (23).

Otro trabajo analizó el fenotipo y genotipo de tres familias marroquíes que presentaban ATRd y sordera. El análisis molecular se realizó mediante amplificación por PCR y secuenciación directa del exón 12 del gen *ATP6V1B1* (24). Asimismo, en esta misma población se realizó otro estudio en el que se analizaron 44 pacientes marroquíes para establecer un diagnóstico molecular de ATRd y, así, predecir y explicar el fenotipo de la enfermedad en estos individuos con nefrolitiasis y/o nefrocalcinosis mediante el análisis del gen *ATP6V1B1* que causan nefrolitiasis y/o nefrocalcinosis cuando están mutados (25).

Por lo tanto, gracias a la secuenciación Sanger se han identificado nuevas mutaciones asociadas a la ATRd. Además, esta técnica ha permitido discernir entre diferentes fenotipos de la enfermedad y lograr su diagnóstico genético.

6.3.2. Secuenciación de nueva generación

La secuenciación de nueva generación (NGS) es un método reciente que permite secuenciar el ADN y el ARN y obtener millones de lecturas de secuenciación de manera simultánea. Este método revolucionario permite además analizar muchas secuencias diana al mismo tiempo, lo que es de gran utilidad en la práctica clínica (26). Cabe destacar que la NGS se ha aplicado principalmente en estudios que no encontraron mutaciones mediante secuenciación Sanger. De los estudios incluidos en esta revisión bibliográfica, cuatro de ellos emplearon esta técnica para detectar mutaciones en el gen *ATP6V1B1* y *ATP6V0A4*, uno de ellos incluyendo la validación de las variantes encontradas mediante secuenciación Sanger (27).

En uno de los estudios se llevó a cabo la secuenciación del exoma completo (WES), derivación de la NGS en la que se secuencia el conjunto de exones del genoma humano, en población pediátrica y adulta de origen libio y chino (27, 30).

Otro estudio centrado en 32 niños de origen asiático con casos de nefrolitiasis y nefrocalcinosis, que tenían una base hereditaria empleó la WES analizando tríos, compuestos por el niño/a afecto/a junto con sus progenitores (27). Las variantes se confirmaron mediante secuenciación de Sanger y se predijo su patogenicidad según la alteración de la función de la proteína codificada mediante herramientas bioinformáticas (27). Gracias a ello, revelaron un grado significativo de retraso del crecimiento, aumento de la excreción urinaria de la proteína de bajo peso molecular, hipercalciuria, desequilibrios electrolíticos y edad temprana de aparición, que eran comunes en la enfermedad diagnosticada (27).

Otro estudio realizado en población italiana analizando 89 adultos que mostraban características clínicas particulares, como la hipoacusia neurosensorial, asociadas principalmente a mutaciones en *ATP6V1B1* y no en otros genes (28), empleó también NGS y pudo confirmar la existencia de diversas mutaciones en *ATP6V1B1* (28).

Un trabajo centrado en población china aplicó NGS de los posibles genes causantes de ATRd en 5 niños de origen chino, para explorar así sus posibles correlaciones genotipo-fenotipo (29). Pese al uso de NGS, en uno de los niños analizados no se encontraron mutaciones en ninguno de los genes causales conocidos relacionados con la ATRd. Sin embargo, en el resto de los pacientes sí que se encontraron mutaciones vinculadas con esta enfermedad (29).

En una población de una familia consanguínea libia adulta, mostró que WES ofrecía una visión más amplia de los posibles reordenamientos cromosómicos, así como el espectro mutacional de otros genes implicados en esta patología (30). Un paciente libio era heterocigoto para 2 mutaciones diferentes en los genes *ATP6V0A4* y *ATP6V1B1*, mientras que no se detectó ninguna variación deletérea en el resto de los genes responsables de la forma recesiva de la ATRd (30).

6.3.3. Ensayos funcionales de procesamiento del ARNm

Dado que no todas las mutaciones encontradas en los pacientes con ATRd son no sinónimas o sin sentido, algunos estudios han analizado las posibles consecuencias funcionales en el *splicing* del pre-ARNm. De los estudios incluidos en esta revisión

bibliográfica, un estudio empleó herramientas bioinformáticas predictivas y ensayos de minigenes (31). Este trabajo ha mostrado que diversos tipos de variantes pueden alterar los elementos reguladores del *splicing* afectando al proceso de *splicing* del pre-ARNm, señalando así la importancia de evaluar los efectos de las variantes exónicas a nivel del ARNm (31). Además, este estudio sugirió que el análisis de minigenes puede ser una herramienta eficaz para evaluar los efectos del *splicing* de las variantes *in vitro* (31).

6.4. Mutaciones comunes en el gen *ATP6V1B1* entre diferentes estudios y características clínicas asociadas

En estudios diferentes centrados en poblaciones española, marroquí, china y argelina con ATRd se ha identificado la mutación c.1155dupC. Sin embargo, para esta misma mutación, encontramos un estudio en población tunecina que indicaba la característica clínica de ATRd acompañada de PAN (20), mientras que en otros dos estudios centrados en poblaciones marroquíes los pacientes presentaban ATRd junto con sordera con nefrocalcinosis y nefrolitiasis (24, 25).

En una población tunecina que presentaban ATRd acompañada de PAN, se detectaron las mutaciones c.175-1G>C y c.1102G>A (20) mientras que en un estudio centrado población argelina, marroquí y española y otro estudio cuya población no se especifica los pacientes solo presentaban ATRd (31,39).

Una población hindú con ATRd presentaba la mutación c.1037C>G (34) pero en una población israelí con ATRd con pérdida auditiva y PAN se identificó la misma mutación (47).

Por otro lado, en una población china con nefrocalcinosis se identificaron las mutaciones c.785+1G>A y c.786-1G>C (33), mientras que en otra población de mismo origen y en las que se detectaron las mismas mutaciones, los pacientes que presentaban ATRd con/sin AVD y PAN (19, 49). Sin embargo, en el caso de las mutaciones c.409C>T y c.904C>T detectadas en poblaciones chinas diferentes, los pacientes únicamente presentaban ATRd (29,43). En este sentido, también se identificó una delección (c.1356delT) en pacientes de origen chino y coreano y la mutación c.368G>T en pacientes coreanos y en población no especificada asociadas únicamente a ATRd (31, 44, 49).

Según lo anteriormente expuesto, la identificación de mutaciones individuales en el gen *ATP6V1B1* no es suficiente para discernir las características clínicas, que podrán ir desde formas más leves a graves de la enfermedad. Por ello, es necesario considerar el

análisis de varias mutaciones en el gen *ATP6V1B1* y considerar además la identificación de mutaciones en otros genes relacionados con la enfermedad, que podrían actuar de manera conjunta (*ATP6V0A4*, *SLC4A1*, *FOXI1* y *WDR72*).

6.5. Estudios genéticos centrados en los genes *ATP6V1B1* y *ATP6V0A4*

Numerosos estudios genéticos han analizado simultáneamente los genes *ATP6V1B1* y *ATP6V0A4*. En pacientes adultos japoneses se identificaron mutaciones en ambos genes, que se asociaban con un retraso del crecimiento en la niñez y con la presencia de nefrocalcinosis acompañada de hipercalciuria. Estos pacientes provenían de tres familias no emparentadas que presentaban además PAN temprana. De ellos, dos tenían mutaciones en el gen *ATP6V1B1*, y el tercero tenía una mutación sin sentido en un alelo del gen *ATP6V0A4* que incluía varios exones en otro alelo (32).

En un estudio centrado en población china adulta se encontró una diferencia significativa en la frecuencia de la hipoacusia neurosensorial profunda (HN) entre pacientes, dependiendo de que las mutaciones causales se encontrasen en *ATP6V1B1* o *ATP6V0A4*. El inicio clínico de la hipoacusia en el grupo *ATP6V1B1* fue significativamente más precoz, siendo frecuente la realización de implantes cocleares en este grupo. En cambio, en el grupo *ATP6V0A4* la PAN fue leve, por lo que el tratamiento con audífonos era suficiente (33).

Un estudio centrado en 7 niños de ascendencia india con ATRd, reveló la presencia de mutaciones patogénicas en 6 de ellos (34), gracias a la realización de pruebas genéticas para *ATP6V1B1*, *ATP6V0A4*, *SLC4A1*, *FOXI1* y *WDR72*. De los 7 niños, uno presentaba nuevas mutaciones (en los exones 2 y 6) en el gen *ATP6V1B1* (34).

Un estudio centrado en la población española adulta mostró que las alteraciones del gen *ATP6V1B1* se heredan de manera recesiva y se asocian con un inicio más precoz de la enfermedad y con sordera neurosensorial en varios casos (35). El manejo clínico de la ATRd se basa en sales de bicarbonato o citrato, que no logran mejorar en todos los casos de alteraciones metabólicas. Por ello, los autores han propuesto un nuevo tratamiento basado en sales de bicarbonato y citrato de liberación prolongada, el cual ha recibido la denominación de medicamento huérfano en Europa para el tratamiento de esta enfermedad (35).

Un trabajo se centró en el análisis de dos hermanos que presentaban acidosis metabólica hiperclorémica grave, pH urinario alto, nefrocalcinosis, retraso del

crecimiento, hipoacusia neurosensorial y parálisis hipopotasémica (36). Las pruebas de laboratorio indicaban disfunción tubular proximal y hiperoxaluria. Con un tratamiento con potasio y álcalis a bajas dosis, se estabilizaron las anomalías tubulares proximales, las enzimas musculares y la oxaluria (36). En ambos hermanos sólo se encontraron mutaciones en el gen *ATP6V1B1* causales de la ATRd con pérdida auditiva (36).

Otro estudio mostró que la disfunción de las células intercaladas en los túbulos colectores es responsable de todas las causas genéticas de ATRd. Estas células secretan protones al lumen tubular a través de la H^+ -ATPasa, acoplada funcionalmente al intercambiador de aniones basolateral 1 (AE1) (37). El sustrato para ambos transportadores lo proporciona la actividad catalítica de la anhidrasa carbónica II citosólica (CAII), enzima que también está presente en las células tubulares proximales y en los osteoclastos (37). Las mutaciones en *ATP6V1B1* suelen ser responsables de pacientes con ATRd autosómica recesiva asociada con sordera precoz o tardía, por lo que las mutaciones en el gen que codifica la CAII citosólica se asocian con el síndrome autosómico recesivo de osteopetrosis, ATR mixta distal y proximal y calcificación cerebral (37). Las mutaciones en el *AE1*, gen que codifica el intercambiador Cl^-/HCO_3^- , suelen presentarse como ATRd dominante, pero recientemente se ha descrito un patrón recesivo (37).

Finalmente, un estudio realizado con 27 pacientes que presentaban ATRd, analizó las características demográficas, las variables bioquímicas, y características clínicas como la presencia de sordera, urolitiasis y nefrocalcinosis (38). La pérdida de audición estaba presente en la mayoría de los pacientes con mutaciones *ATP6V1B1*, y otros en 2 pacientes con mutaciones *ATP6V0A4* (38).

6.6. Enfermedad renal crónica (ERC)

En una población argelina, marroquí y española en la que se analizaron 16 menores con ATRd, se encontró que la función renal disminuía con el tiempo. Así, en el último año el 43% tenía enfermedad renal crónica (ERC) de moderada a grave (39). La incidencia de PAN fue alta en los pacientes con mutaciones en *ATP6V1B1*, aunque no es una característica universal (39).

Un estudio mucho más amplio, que incluyó 340 pacientes (52% mujeres) provenientes de 29 países distintos, reportó una mayor prevalencia de ERC estadio 2 en niños (35%) y adultos (82%) (40). También notificó la presencia de nefrocalcinosis en el

88% de individuos analizados, mientras que el 36% indicaba una pérdida auditiva, especialmente en pacientes con mutaciones localizadas en *ATP6V1B1* (88%). Por otro lado, se alcanzó un control metabólico adecuado (bicarbonato plasmático normal y normocalciuria) en 158 pacientes (51%) (40).

6.7. Riñón medular esponjoso (RMS)

Un estudio realizado en población italiana analizando adultos, mostró que el riñón medular esponjoso (RMS) es una enfermedad congénita rara caracterizada por ectasia difusa o dilatación de los túbulos colectores precaliciales (**Figuras 5 y 6**) (41). Los individuos con esta enfermedad presentaban defectos de la función tubular de acidificación y concentración (41). Entre los pacientes analizados, dos de ellos padecían ATRd, hipoacusia neurosensorial tardía y RMS, lo que motivó la realización de estudios moleculares que mostraron la presencia de mutaciones de la bomba de protones en los genes *ATP6V1B1* y *ATP6V0A4* (41).

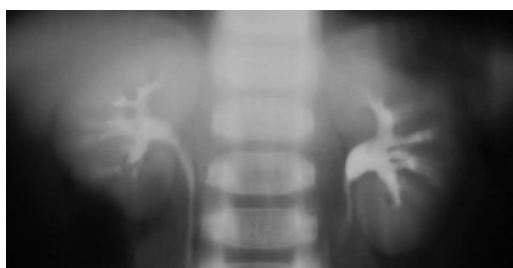


Figura 5. Urografía intravenosa con tomografía del paciente que muestra RMS con estrías lineales y configuración en cepillo de los conductos medulares dilatados en ambos riñones. Extraída de Carboni *et al.* (41).



Figura 6. Urografía intravenosa con tomografía del paciente mostrando RMS con el típico aspecto de "ramo de flores" (flechas). Extraída de Carboni *et al.* (41).

6.8. Diabetes insípida nefrogénica (DIN)

Un estudio realizado en población india analizando niños de edades comprendidas entre los 14 meses y 2 años, mostró que la diabetes insípida nefrogénica (DIN) puede ser primaria o secundaria. Entre los casos analizados, se comprobó que uno de los pacientes analizados tenía Síndrome de Fanconi con ATRd proximal por cistinosis nefropática, y otro presentaba ATRd acompañada de hipoacusia (42). El análisis genético mostró una mutación homocigota en el gen *ATP6V1B1*, confirmando la patología de ATRd con DIN secundaria y sordera moderada. Gracias a este diagnóstico, estos niños empezaron a recibir indometacina, suplementos de fosfato, solución de Sohl y cisteamina (tratamiento específico para la cistinosis) (42).

6.9. Síndrome de Sjögren primario (SSp)

Dado que el SSp también se ha relacionado con la ATRd, un estudio realizó una comparativa de las características de 11 pacientes con ATRd, 8 pacientes con SSp y 8 pacientes sanos. En todos ellos, se realizaron pruebas bioquímicas en suero, pruebas regulares en orina y la cuantificación de proteínas en orina de 24 horas mediante un analizador automatizado (43). También se realizó un ensayo de inmunofluorescencia para detectar los anticuerpos contra la subunidad B1 y la subunidad B2 de las ATPasas v-H⁺ (adenín trifosfatasa) en el suero de estos pacientes (43). Además, se llevó a cabo la determinación de los anticuerpos séricos contra las células epiteliales tubulares renales, encontrando 6 positivos entre los pacientes con ATRd, pero ninguno entre los pacientes con SSp y los controles sanos (43).

6.10. Nefrocalcinosis y nefrolitiasis

Un estudio realizado en población coreana analizando niños con ATRd, mostró que estos individuos presentaban nefrocalcinosis, y se observó pérdida auditiva neurosensorial en pacientes con mutaciones en *ATP6V1B1* (44). Tres pacientes (17,6%) presentaban disminución de la función renal (enfermedad renal crónica estadio 2), y 5 pacientes (29,4%) tenían retraso del crecimiento (44).

Por otro lado, un estudio realizado en población tailandesa que analizó a dos hermanos mostró que las características clínicas comunes de la ATRd incluyen vómitos, retraso del crecimiento, poliuria, hipercalcemia, hipocitraturia, raquitismo, nefrocalcinosis y nefrolitiasis (45). Esto determinó que estos pacientes necesitaban un tratamiento alcalino precoz y en dosis suficientes para lograr un buen pronóstico. La normalización del bicarbonato sérico, la excreción urinaria de calcio, los niveles urinarios de proteínas de bajo peso molecular y la velocidad del crecimiento se encontró que resultaban ser buenos marcadores de la adherencia y/o eficacia del tratamiento (45).

Finalmente, otro estudio mostró que la acidosis metabólica completa o incompleta junto con una orina inapropiadamente alcalina son las características de esta patología (46). Las alteraciones de la homeostasis ácido-base se asocian de forma variable con hipopotasemia, hipercalcemia, nefrocalcinosis o nefrolitiasis, y un fenotipo de pérdida de sal (46).

6.11. SNHL acompañada de acueducto vestibular agrandado (AVD)

El análisis de 5 niños de ascendencia israelí mostró que la ATRd y SNHL que padecían estaba causado por mutaciones en el gen *ATP6V1B1* (47). Estos niños tenían un pH sanguíneo bajo y pH urinario inapropiadamente alto. En la tomografía computarizada de alta resolución, se encontró AVD bilateral. Se determinó que era necesaria la realización de un implante coclear a dos de los niños, de 10 y 15 años (47).

En un estudio centrado en población italiana y albanesa adulta también se observó que un número significativo de pacientes afectados por ATRd manifiestan PAN. Las mutaciones en el gen *ATP6V1B1* se asociaron con PAN de aparición temprana, mientras que las mutaciones en *ATP6V0A4* se describieron en ATRd y PAN de aparición tardía (48). Además, se encontró AVD en pacientes con ATRd recesiva y PAN con mutaciones en el gen *ATP6V1B1*, por lo que este estudio confirma la asociación de AVD y mutaciones en el gen *ATP6V1B1* (48).

Por último, un trabajo realizado en población china analizando niños de edades comprendidas entre los 2 meses y 14 años, mostró que en un ensayo de familias distintas con mutaciones en *ATP6V1B1* presentaban PAN de aparición temprana y AVD (**Figura 7**) (49).

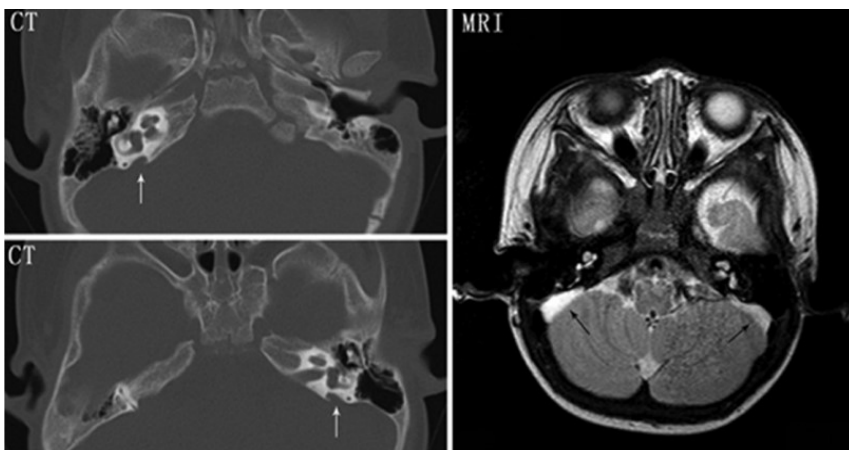


Figura 7. Tomografía computarizada (TC, CT en inglés) de alta resolución y resonancia magnética (MRI) de los huesos temporales en uno de estos pacientes. Es evidente el agrandamiento bilateral del acueducto vestibular y del saco endolinfático (flechas). Extraída de Gao *et al.* (49)

6.12. Perspectivas futuras

El diagnóstico prenatal o el diagnóstico postnatal tras el nacimiento podría ser una solución para evitar que la ATRd evolucione desfavorablemente en algunos pacientes. En concreto, el diagnóstico prenatal consiste en detectar problemas anatómicos y fisiológicos en el cigoto, embrión o feto tan temprano como sea posible durante la gestación. En

cambio, el diagnóstico postnatal permite verificar y/o encontrar la causa de un trastorno de causa genética en el caso de que un niño o adulto tenga un diagnóstico clínico o exista sospecha de que sea portador de una enfermedad genética o cromosómica (50). Existen centros que realizan un diagnóstico genético preimplantacional, cuyo objetivo es diagnosticar alteraciones genéticas y cromosómicas en los embriones antes de que sean transferidos al útero materno, por lo que siempre requieren una técnica de fecundación *in vitro* con o sin microinyección espermática (50). De esta manera, se podría realizar una selección de embriones no portadores de las mutaciones causantes de la ATRd, siempre que la legislación vigente lo permitiese.

El abaratamiento de las técnicas de secuenciación masiva también podrá permitir que en el futuro se disponga de información genética de cualquier recién nacido, pudiendo determinarse de manera temprana la presencia de mutaciones causantes de ATRd, lo que conllevaría una intervención temprana. Por otro lado, las técnicas de edición genética se están aplicando de manera exitosa en modelos animales preclínicos de distintas formas monogénicas de sordera neurosensorial, lo que podría suponer en el futuro la cura de algunos de estos trastornos (51).

7. Conclusiones

- La mayoría de los estudios de ATRd analizados se ha centrado en población asiática y ha empleado técnicas de secuenciación Sanger o masiva en el diagnóstico de la enfermedad. Los tipos de variantes más comúnmente detectadas fueron de cambio de sentido o que afectasen al *splicing*.
- La identificación de mutaciones individuales en el gen *ATP6V1B1* no es suficiente para caracterizar las afecciones clínicas y distinguir entre las formas más leves y graves de la enfermedad. Por lo tanto, es necesario analizar todos los genes relacionados con la ATRd.
- El diagnóstico genético temprano ayudaría a lograr un manejo y evolución de la ATRd adecuado, evitando así que se desarrollen las formas más graves de la enfermedad y permitiendo identificar las mejores opciones terapéuticas para cada paciente.

8. Conclusions

- Most of the studies of dRTA analyzed have focused on the Asian population and

have used Sanger or next-generation sequencing techniques in the diagnosis of the disease. The most common types of variants detected were missense or splicing variants.

- Identification of individual mutations in the *ATP6V1B1* gene is not sufficient to characterize clinical conditions and distinguish between mild and severe forms of the disease. Therefore, it is necessary to analyze all the genes related to dRTA.
- Early genetic diagnosis would help achieve adequate management and evolution of dRTA, thus preventing the most serious forms of the disease from developing and suggesting the best therapeutical options for each patient.

9. Bibliografía

1. Bushinsky DA. Kidney stones. En: Melmed S, Auchus RJ, Goldfine AB, Koenig RJ, Rosen CJ, eds. *Williams Textbook of Endocrinology*. 14th ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2020: capítulo 32
2. Dixon BP. Renal tubular acidosis. En: Kliegman RM, St. Geme JW, Blum NJ, Shah SS, Tasker RC, Wilson KM, eds. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 21st ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2020: capítulo 547
3. Seifter JL. Acid-base disorders. En: Goldman L, Schafer AI, eds. *Goldman-Cecil Medicine*. 26th ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2020: capítulo 110
4. **Gómez-Conde, S., García-Castaño, A., Aguirre, M., Herrero, M., Gondra, L., et al.** (2021). Hereditary distal renal tubular acidosis: Genotypic correlation, evolution to long term, and new therapeutic perspectives. *Nefrología*, 41(4), 383–390. <https://doi.org/10.1016/j.nefro.2021.09.004>
5. **Peña, G. H., Luis, Y. M. I., Santos, R. F., García Nieto, VM.** 2014. Un caso de acidosis tubular renal distal con sordera, vol.38, nº1, páginas 15-21. En: *Canarias Pediátrica*.
6. **Aguirre, M. M., Luis Y. M. I.** 2022. Tubulopatías. *Protoc diagn ter pediatri*.
7. Asociación Española de Pediatría (AEP). Protocolos diagnósticos y terapéuticos en Pediatría. [Consultado 12 de enero de 2024]. Disponible en: <https://www.aeped.es/protocolos/>
8. GeneCards, The Human Gene Database [Internet] [Consultado 24 de Abril de 2024]. Disponible en: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ATP6V1B1>
9. National Institutes of Health (NIH) [Internet]. USA. [Consultado 12 de Abril de 2024]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/525>
10. Ensembl genome browser 111 [Internet] [Consultado 12 de Abril de 2024]. Disponible en: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000116039;r=2:70935900-70965431
11. UCSC Genome Browser Home [Internet]. University of California – Santa Cruz. [Consultado 12 de Abril de 2024]. Disponible en: https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks?db=hg38&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr2%3A70935900%2D70965431&hgid=2124896336_OEBFQt59vJJraov3Hr130p4D9Nsn
12. The National Center for Biotechnology Information [Internet]. USA. [Acceso 14 de diciembre de 2023]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>

13. PubMed [base de datos en Internet]. Bethesda: National Library of Medicine; 1996 [Consultado 14 de diciembre de 2023]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.gov/pubmed/>
14. Google Académico [Internet] [Consultado 14 de diciembre de 2023]. Disponible en: <https://scholar.google.es/schhp?hl=es>
15. ResearchGate [Internet]. [Consultado 12 de diciembre de 2023]. Disponible en: <https://www.researchgate.net>
16. Orphanet. Diagnostic tests. [Consultado 12 de enero de 2024]. Disponible en: https://www.orpha.net/consor/cgibin/ClinicalLabs_Search_Simple.php?Ing=EN&LnkId=3621&Typ=Pat
17. **Robert, E., Farrel, Jr.,** (2010). RT-PCR: una ciencia y una forma de arte. En *RNA Methodologies 4e, A Laboratory Guide for Isolation and Characterization* (385-448). Academic Press. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123747273000188>
18. **Crossley, B. M., Bai, J., Glaser, A., Maes, R., et al.** (2020). Guidelines for Sanger sequencing and molecular assay monitoring. *J Vet Diagn Invest* 32(6), 767-775. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7649556/>
19. **Zhao, X., Lu, J., Gao, Y., Wang, X., Lang, Y., et al.** (2018). Novel compound heterozygous ATP6V1B1 mutations in a Chinese child patient with primary distal renal tubular acidosis: a case report. *BMC Nephrology*, 19(1), 364. <https://doi.org/10.1186/s12882-018-1173-1>
20. **Elhayek, D., Perez de Nanclares, G., Chouchane, S., Hamami, S., Mlika, A., et al.** (2013). Molecular diagnosis of distal renal tubular acidosis in Tunisian patients: proposed algorithm for Northern Africa populations for the ATP6V1B1, ATP6V0A4 and SCL4A1 genes. *BMC Medical Genetics*, 14, 119. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-14-119>
21. **Vargas-Poussou, R., Cochat, P., Le Pottier, N., Roncelin, I., Liutkus, A., et al.** (2008). Report of a family with two different hereditary diseases leading to early nephrocalcinosis. *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)*, 23(1), 149–153. <https://doi.org/10.1007/s00467-007-0584-1>
22. **Khan, N., Akhtar, N., Khan, F. F., Hussain, S., & Naeem, M.** (2020). Molecular Diagnosis and Identification of Genetic Variants Underlying Distal Renal Tubular Acidosis in Pakistani Patients Using Whole Exome Sequencing. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 24(2), 85–91. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2019.0195>
23. **Gómez, J., Gil-Peña, H., Santos, F., Coto, E., Arango, A., et al.** (2016). Primary distal renal tubular acidosis: novel findings in patients studied by next-generation sequencing. *Pediatric Research*, 79(3), 496–501. <https://doi.org/10.1038/pr.2015.243>
24. **Boualla, L., Jdioui, W., Soulami, K., Ratbi, I., & Sefiani, A.** (2016). Clinical and molecular findings in three Moroccan families with distal renal tubular acidosis and deafness: Report of a novel mutation of ATP6V1B1 gene. *Current Research in Translational Medicine*, 64(1), 5–8. <https://doi.org/10.1016/j.retram.2016.01.005>
25. **Fatima, A., Mohamed, A., Moustapha, H., & Karim, O.** (2022). Molecular Diagnosis of Primary Hyperoxaluria Type 1 and Distal Renal Tubular Acidosis in Moroccan Patients With Nephrolithiasis and/or Nephrocalcinosis. *Cureus*, 14(3), e23616. <https://doi.org/10.7759/cureus.23616>
26. **Qin, D.** (2019). Next-generation sequencing and its clinical application. *Cancer Biol Med* 16(1), 4-10. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6528456/>
27. **Huang, L., Qi, C., Zhu, G., Ding, J., Yuan, L., et al.** (2022). Genetic testing enables a precision medicine approach for nephrolithiasis and nephrocalcinosis in pediatrics: a single-center cohort. *Molecular Genetics and Genomics: MGG*, 297(4), 1049–1061. <https://doi.org/10.1007/s00438-022-01897-z>
28. **Palazzo, V., Provenzano, A., Becherucci, F., Sansavini, G., Mazzinghi, B., et al.** (2017). The genetic and clinical spectrum of a large cohort of patients with distal renal tubular acidosis. *Kidney International*, 91(5), 1243–1255. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.12.017>

29. Zhang, R., Wang, C., Lang, Y., Gao, Y., Chen, Z., *et al.* (2018). Five Novel Mutations in Chinese Children with Primary Distal Renal Tubular Acidosis. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 22(10), 599–606. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2018.0057>
30. Nagara, M., Papagregoriou, G., Ben Abdallah, R., Landoulsi, Z., Bouyacoub, Y., *et al.* (2018). Distal renal tubular acidosis in a Libyan patient: Evidence for digenic inheritance. *European Journal of Medical Genetics*, 61(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2017.10.002>
31. Zhang, R., Chen, Z., Song, Q., Wang, S., Liu, Z., *et al.* (2021). Identification of seven exonic variants in the SLC4A1, ATP6V1B1, and ATP6V0A4 genes that alter RNA splicing by minigene assay. *Human Mutation*, 42(9), 1153–1164. <https://doi.org/10.1002/humu.24246>
32. Miura, K., Sekine, T., Takahashi, K., Takita, J., Harita, Y., *et al.* (2013). Mutational analyses of the ATP6V1B1 and ATP6V0A4 genes in patients with primary distal renal tubular acidosis. *Nephrology, Dialysis, Transplantation : Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 28(8), 2123–2130. <https://doi.org/10.1093/ndt/gft216>
33. Guo, W., Song, Q., Zhang, R., Xin, Q., Liu, Z., *et al.* (2021). Genotypic and phenotypic analysis in 51 Chinese patients with primary distal renal tubular acidosis. *Clinical Genetics*, 100(4), 440–446. <https://doi.org/10.1111/cge.14011>
34. Dawman, L., Tiewsoh, K., Barman, P., Pratyusha, K., Chaakchhuak, L., *et al.* (2022). Phenotype and Genotype Profile of Children with Primary Distal Renal Tubular Acidosis: A 10-Year Experience from a North Indian Teaching Institute. *Journal of Pediatric Genetics*, 11(3), 221–226. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1724114>
35. Gómez-Conde, S., García-Castaño, A., Aguirre, M., Herrero, M., Gondra, L., *et al.* (2021). Hereditary distal renal tubular acidosis: Genotypic correlation, evolution to long term, and new therapeutic perspectives. *Nefrología*, 41(4), 383–390. <https://doi.org/10.1016/j.nefro.2021.09.004>
36. Tasic, V., Korneti, P., Gucev, Z., Hoppe, B., Blau, N., *et al.* (2008). Atypical presentation of distal renal tubular acidosis in two siblings. *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)*, 23(7), 1177–1181. <https://doi.org/10.1007/s00467-008-0796-z>
37. Batlle, D., & Haque, S. K. (2012). Genetic causes and mechanisms of distal renal tubular acidosis. *Nephrology, Dialysis, Transplantation : Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 27(10), 3691–3704. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfs442>
38. Alonso-Varela, M., Gil-Peña, H., Coto, E., Gómez, J., Rodríguez, J., *et al.* (2018). Distal renal tubular acidosis. Clinical manifestations in patients with different underlying gene mutations. *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)*, 33(9), 1523–1529. <https://doi.org/10.1007/s00467-018-3965-8>
39. Gómez-Conde, S., García-Castaño, A., Aguirre, M., Herrero, M., Gondra, L., *et al.* (2021). Molecular aspects and long-term outcome of patients with primary distal renal tubular acidosis. *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)*, 36(10), 3133–3142. <https://doi.org/10.1007/s00467-021-05066-z>
40. Lopez-Garcia, S. C., Emma, F., Walsh, S. B., Fila, M., Hooman, N., *et al.* (2019). Treatment and long-term outcome in primary distal renal tubular acidosis. *Nephrology, Dialysis, Transplantation : Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 34(6), 981–991. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfy409>
41. Carboni, I., Andreucci, E., Caruso, M. R., Ciccone, R., Zuffardi, O., *et al.* (2009). Medullary sponge kidney associated with primary distal renal tubular acidosis and mutations of the H⁺-ATPase genes. *Nephrology, Dialysis, Transplantation : Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 24(9), 2734–2738. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp160>
42. Das, D., Sinha, R., & Dey, S. (2019). Renal Tubular Acidosis Presenting as Nephrogenic Diabetes Insipidus. *Indian Pediatrics*, 56(4), 325–327.
43. Xu, C., Li, Y., Ying, H., Pan, Y., Shi, R., *et al.* (2019). Presence of serum autoantibodies to vacuolar H⁺-ATPase in patients with renal tubular acidosis. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 22(5), 805–814. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.13518>

44. **Park, E., Cho, M. H., Hyun, H. S., Shin, J. Il, Lee, J. H., et al.** (2018). Genotype-Phenotype Analysis in Pediatric Patients with Distal Renal Tubular Acidosis. *Kidney & Blood Pressure Research*, 43(2), 513–521. <https://doi.org/10.1159/000488698>
45. **Watanabe, T.** (2018). Improving outcomes for patients with distal renal tubular acidosis: recent advances and challenges ahead. *Pediatric Health, Medicine and Therapeutics*, 9, 181–190. <https://doi.org/10.2147/PHMT.S174459>
46. **Trepiccione, F., Prosperi, F., de la Motte, L. R., Hübner, C. A., Chambrey, R., et al.** (2017). New Findings on the Pathogenesis of Distal Renal Tubular Acidosis. *Kidney Diseases*, 3(3), 98–105. <https://doi.org/10.1159/000478781>
47. **Joshua, B., Kaplan, D. M., Raveh, E., Lotan, D., & Anikster, Y.** (2008). Audiometric and imaging characteristics of distal renal tubular acidosis and deafness. *The Journal of Laryngology and Otology*, 122(2), 193–198. <https://doi.org/10.1017/S0022215107009747>
48. **Andreucci, E., Bianchi, B., Carboni, I., Lavoratti, G., Mortilla, M., et al.** (2009). Inner ear abnormalities in four patients with dRTA and SNHL: clinical and genetic heterogeneity. *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)*, 24(11), 2147–2153. <https://doi.org/10.1007/s00467-009-1261-3>
49. **Gao, Y., Xu, Y., Li, Q., Lang, Y., Dong, Q., et al.** (2014). Mutation analysis and audiologic assessment in six Chinese children with primary distal renal tubular acidosis. *Renal Failure*, 36(8), 1226–1232. <https://doi.org/10.3109/0886022X.2014.930332>
50. Orphanet. Diagnostic tests. [Consultado 12 de enero de 2024]. Disponible en: https://www.orpha.net/consor/cgibin/ClinicalLabs_Search_Simple.php?Ing=EN&LnkId=3621&Typ=Pat
51. **Petit C, Bonnet C, Safieddine S.** Deafness: from genetic architecture to gene therapy. *Review Nat Rev Genet* 2023;24(10):665-686. doi: 10.1038/s41576-023-00597-7