

FORMACION CONTINUADA

Biología molecular de las tubulopatías hereditarias. Del fenotipo al gen

J Rodríguez Soriano

Departamento de Pediatría. Hospital de Cruces y Universidad del País Vasco, Bilbao.

CONCEPTO Y CLASIFICACION DE LAS TUBULOPATIAS

Las enfermedades del túbulo renal o *tubulopatías* se definen como alteraciones clínicas en las que existe una disfunción tubular específica con afectación escasa o nula de la función glomerular. Esta afirmación es válida únicamente en estadios precoces, ya que en el curso evolutivo de una tubulopatía puede también producirse una patología glomerular secundaria. Las disfunciones tubulares pueden ser *simples* o *complejas* según se afecte el transporte tubular de una o varias sustancias, respectivamente. Pueden también representar una anomalía *primaria*, casi siempre hereditaria, del transporte tubular o ser la consecuencia de un trastorno *secundario* a otras enfermedades o a administración de medicamentos y tóxicos¹. En esta breve revisión nos ocuparemos únicamente de las *tubulopatías hereditarias*.

MECANISMOS DE TRANSPORTE TUBULAR RENAL

Las células tubulares renales están exquisitamente capacitadas para procesar de manera secuencial el filtrado glomerular, reabsorbiendo o excretando solutos de acuerdo con las necesidades del organismo. En general, las tubulopatías se agrupan en uno de los siguientes grupos patogénicos: 1) trastornos de reabsorción (por defecto de captación en la membrana luminal, escape retrógrado excesivo o utilización celular alterada); 2) trastornos de secreción, y 3) trastornos de transporte hormono-dependientes (por unión inapropiada de la hormona con sus receptores tubulares o transmisión inadecuada de la señal hormonal). En su conjunto, el transporte transtubular de una sustancia requiere la integridad del complejo sistema formado por los transportes de membrana, el sistema ATP generador de energía, los canales de transporte iónico, los receptores hormonales y los mecanismos de transducción intracelular de la señal generada a nivel de los receptores. En general, estos

últimos mecanismos requieren también la integridad del sistema efector, constituido por las proteínas G, adenilciclase, fosfolipasa C, fosfolipasa A2, canales iónicos, especialmente al calcio, y fosfatasa. Todas estas sustancias controlan el nivel intracelular de los llamados segundos mensajeros, es decir, AMP cíclico, calcio iónico y trifosfato de inositol².

Por otra parte, la estructura del túbulo renal es altamente heterogénea, lo que hace que cada segmento posea células altamente especializadas para una función específica. Hasta hace poco tiempo, el conocimiento de la función tubular renal derivaba de estudios basados en la micropunción, microcaterización o microperfusión de túbulos aislados. Sin embargo, la explosión de la biología molecular ha abierto nuevos caminos que han permitido comprender el complejo funcionamiento de la célula tubular aislada³. Obviamente este espectacular avance en el conocimiento fisiológico se va pronto a traducir también en una mejor comprensión patogénica de las tubulopatías hereditarias.

BIOLOGIA MOLECULAR Y TUBULOPATIAS

La moderna biología molecular, con la posibilidad de localizar y clonar los genes, así como de determinar sus mutaciones o deleciones, ha revolucionado el campo de estudio de las nefropatías hereditarias. En este sentido, la publicación de Reeders y cols. en 1985⁴ localizando el gen de la poliquistosis renal autosómica dominante en el brazo corto del cromosoma 16, mediante estudios de «linkage» genético, abrió un nuevo período histórico. Cabe, por tanto, hablar de un *pasado*, antes de esta fecha; un *presente*, en el que se ofrecen ya posibilidades, en algunas nefropatías hereditarias, de diagnóstico presintomático o prenatal, y un *futuro*, aún lejano, en el que se pondrán a punto nuevas y revolucionarias posibilidades terapéuticas.

Estudios clásicos de descripción de fenotipos, definición del tipo de herencia y conocimiento fisiopato-

Tabla I. Principales tubulopatías hereditarias

Glucosuria renal hereditaria.
Anomalías hereditarias del transporte de aminoácidos (cistinuria familiar, etc.).
Hipouricemia familiar con hiperuricosuria.
Síndrome de Fanconi idiopático.
Síndrome óculo-cerebro-renal de Lowe.
Cistinosis.
Síndrome de Fanconi asociado a alteraciones mitocondriales hereditarias.
Acidosis tubular renal proximal primaria (aislada o asociada con retraso mental y anomalías oculares).
Acidosis tubular renal distal primaria (aislada o asociada con sordera nerviosa).
Acidosis tubular renal asociada a osteopetrosis y calcificaciones cerebrales.
Pseudohipoadosteronismo tipo I.
Pseudohipoadosteronismo tipo II (síndrome del «shunt de cloro»).
Síndrome de Liddle, deficiencia de 11 β -hidroxisteroide deshidrogenasa.
Síndrome de Bartter, síndrome de Gitelman.
Diabetes insípida nefrogénica hereditaria.
Raquitismo hipofosfatémico familiar.
Raquitismo familiar con hipercalciuria.
Raquitismo vitamino-D dependiente tipo I.
Hipomagnesemia-hipercalciuria familiar.
Urolitiasis familiar con herencia ligada al sexo.

lógico⁵ adquieren nuevas e importantes interpretaciones, en la época presente, cuando se combinan con estudios de genética molecular^{6,7}. Estos, por ejemplo, han añadido nuevas dimensiones al concepto de heterogeneidad genética, ya que además de la *heterogeneidad genética clínica* (es decir, un mismo fenotipo con diversos tipos de herencia, lo que

sugiere diferentes genes causales) han permitido establecer el concepto de *heterogeneidad genética molecular* (es decir, un mismo fenotipo causado por alteraciones estructurales diferentes del mismo gen).

La aplicación de la genética molecular al estudio de las enfermedades hereditarias sigue hoy día varios caminos paralelos y complementarios:

1) En los estudios de *clonación funcional*^{8,9} se identifican primero los productos del gen y se definen las propiedades estructurales y funcionales de dichos productos antes de localizar el gen y proceder a su clonación. Para esto se utilizan anticuerpos monoclonales o policlonales específicos dirigidos contra la proteína y se construyen sondas de oligonucleótidos a partir de la secuencia de aminoácidos del producto génico, para obtener un fragmento de cDNA e hibridar el gen en el genoma. La existencia de animales mutantes contribuye ocasionalmente a definir mejor a anomalía bioquímica causal. Este camino ha sido seguido en las hemoglobinopatías y en las hemofilias y, dentro del capítulo de las tubulopatías hereditarias, en la acidosis tubular renal asociada a osteopetrosis y causada por una deficiencia de anhidrasa carbónica II.

2) En la llamada *clonación posicional*⁸⁻¹¹ se parte del fenotipo para, sin conocimiento del gen causal ni de su producto, identificar dicho gen en el genoma mediante análisis del polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) en familias afectas y de su «linkage» a diversos marcadores de DNA de localización conocida. Cuanto más cercano se encuentre el gen buscado al marcador, mayor es la probabilidad de que ambos se transmitan conjuntamente en la meiosis. Una vez localizado el gen, puede ser

Tabla II. Genética molecular y tubulopatías hereditarias

Enfermedad	Tipo de herencia	Localización del gen	Producto del gen
Cistinuria	AR	2p16	rBAT
Síndrome óculo-cerebro-renal de Lowe	AR	Xq26	Inositol fosfato-5-fosfatasa
Cistinosis	AR	17p	?
Síndrome de Fanconi asociado a alteraciones mitocondriales hereditarias	MIT	DNA mitocondrial	Complejos III y IV
Osteopetrosis asociada a acidosis tubular renal	AR	8q22	Anhidrasa carbónica II
Pseudohipoadosteronismo tipo I	AD	16p12	β ENaC
Síndrome de Liddle	AD	16p12	β ENaC y γ ENaC
Deficiencia de 11 β -hidroxisteroide deshidrogenasa	AD	16q22	11 β -HSD2
Síndrome de Gitelman	AR	16q13	TSC
Diabetes insípida nefrogénica hereditaria	XR	Xq28	Receptor vasopresina-2
Diabetes insípida nefrogénica hereditaria	AR	12q13	Acuoporina-2
Raquitismo hipofosfatémico familiar	XD	Xp22.1	Endopeptidasa
Urolitiasis familiar con herencia ligada al sexo	XR	Xp11.22	CLCN5

AD: autosómica dominante; AR: autosómica recesiva; XD: dominante ligada al sexo; XR: recesiva ligada al sexo; MIT: mitocondrial; rBAT: transportador de L-cistina y L-aminoácidos dibásicos; β ENaC y γ ENaC: cadenas β y γ del canal epitelial de sodio; 11 β -HSD2: isoenzima 2 de la 11 β -hidroxisteroide deshidrogenasa; TSC: cotransportador Na-C tiazida sensible; CLCN5: canal de cloro-5 voltaje-dependiente.

clonado y determinarse la estructura y función de su producto proteico, así como crear animales transgénicos. La distrofia muscular de Duchenne, la fibrosis quística, la neurofibromatosis y la esclerosis tuberosa son ejemplos del avance espectacular que ha seguido al desarrollo de esta técnica. En Nefrología, su aplicación permitió inicialmente localizar el gen alterado en la poliquistosis renal autosómica dominante y posteriormente clonar el mismo e identificar su producto proteico, la llamada policistina¹². Dentro de las tubulopatías es el camino que hoy día se prosigue intensamente para localizar, por ejemplo, el gen cuya alteración da origen a la cistinosis.

3) Un tercer camino combina las dos técnicas anteriores y constituye el llamado estudio de los *genes candidatos posicionales*¹³. A partir de un fenotipo conocido se seleccionan posibles genes candidatos que son estudiados mediante estudios de «linkage» en familias afectas. Si inicialmente no se posee ningún gen candidato se determina un posible locus cromosómico mediante estudios de clonación posicional para posteriormente seleccionar el gen candidato entre los genes que se sabe están situados en dicho segmento. Las propiedades de cada gen candidato se comparan con las del fenotipo en estudio para determinar el candidato más plausible. Recíprocamente, a medida que nuevos genes se identifican y localizan en dicho segmento, pueden ser estudiados como nuevos genes candidatos. Ejemplos de este método son la identificación de la fibrilina como producto génico alterado en el síndrome de Marfan, del proto-oncogene RET en la neoplasia endocrina múltiple tipo 2 o del receptor para el factor de crecimiento fibroblástico 3 en la acondroplasia¹³. Dentro de las tubulopatías, este abordaje ha permitido identificar los genes de la diabetes insípida nefrogénica hereditaria y del síndrome de Liddle. Constituye también el camino intensamente proseguido para identificar los genes implicados en el pseudohipoaldosteronismo tipo I y en el síndrome de Bartter.

GLUCOSURIA RENAL HEREDITARIA

Es la consecuencia de un defecto hereditario, autosómico dominante, de reabsorción de glucosa en el túbulo renal, y viene definida por la disminución patológica del «umbral» de excreción renal de glucosa. Normalmente la glucosa se detecta en la orina por métodos analíticos habituales cuando la glucemia alcanza 180-200 mg/100 ml (10-11 mmol/L), pero en casos de glucosuria renal esto sucede incluso con niveles normales de glucemia. Existen grados de severidad diferentes: en la glucosuria renal *tipo A*, tanto el umbral como el transporte tubular máximo de gluco-

sa (TmG) están disminuidos, mientras que en la *tipo B* el umbral está disminuido, pero el TmG es normal. Existe una tercera categoría, de gran rareza, la llamada *tipo 0*, en la que no existe ningún transporte tubular de glucosa, dado que la eliminación urinaria es igual a la cantidad filtrada por el glomérulo¹⁴.

Los fenotipos A y B pueden ser la consecuencia de mutaciones en genes diferentes o tratarse de fenotipos alélicos, con mutaciones tipo A causando una pérdida importante de función, y mutaciones tipo B causando solamente una disminución de la afinidad por el sustrato. Un gen candidato posible es el cotransportador denominado SGLT-2, que cotransporta una molécula de sodio y una molécula de glucosa en el lado epitelial de la célula tubular proximal¹⁵. La herencia autosómica dominante presente en la glucosuria renal hereditaria implicaría que ambos alelos codificadores de la proteína SGLT-2 deberían estar normalmente intactos para alcanzarse un máximo nivel de reabsorción de glucosa. El gen codificador de SGLT-2 ha sido localizado en 16p11.2-p12¹⁶, mientras que estudios de «linkage» en cinco familias afectas no relacionadas parecen situar el gen causal de la glucosuria renal tipo A en el cromosoma 6, cerca de los genes de histocompatibilidad HLA¹⁷. Por lo tanto, se precisan más estudios para poder establecer de manera definitiva que la glucosuria renal se debe a un defecto funcional del cotransportador SGLT-2.

CISTINURIA

Representa un trastorno hereditario del transporte tubular renal e intestinal de cistina y los aminoácidos dibásicos lisina, arginina y ornitina. Es una enfermedad relativamente común, con una incidencia de 1/20.000 nacimientos. La importancia clínica deriva de la predisposición a formar cálculos de cistina por los individuos afectados. Se hereda con carácter autosómico recesivo, pero funcionalmente se distinguen al menos tres subtipos (I, II y III), en base a que los homocigotos presentan diferencias en el transporte intestinal de aminoácidos y a que los heterocigotos presentan intensidades variables en la excreción de cistina y aminoácidos dibásicos. Heterocigotos tipo I presentan una excreción urinaria normal de aminoácidos, mientras que heterocigotos tipo II y III presentan una excreción urinaria elevada de cistina y lisina. Los homocigotos simples (I/I, II/II y III/III) y los homocigotos compuestos (I/II, I/III y II/III) tienen toda una excreción urinaria elevada de cistina y aminoácidos dibásicos¹⁸. Estudios de «linkage» permitieron localizar el gen de la cistinuria en el cromosoma 2p¹⁹.

Los mecanismos de transporte transmembranoso son independientes para cistina y aminoácidos dibásicos. Parece existir un transportador de alta afinidad,

denominado rBAT, que transporta tanto L-cistina como L-aminoácidos dibásicos, y un transportador de baja afinidad que solamente transporta L-cistina^{20, 21}. Estudios de inmunolocalización han revelado que rBAT se expresa primariamente en las membranas lumenales del túbulo proximal renal y del intestino delgado y que está también codificado por un gen situado en 2p16²². Mutaciones del gen codificador de rBAT (denominado SLC3A1) fueron, con acierto, rápidamente implicadas como causa de cistinuria²³. Es importante mencionar el papel relevante que han tenido investigadores españoles en este descubrimiento²²⁻²⁶. La mutación más frecuentemente encontrada en España (40 % de los cromosomas cistinúricos examinados) es una mutación «missense» que sustituye la metionina en posición 467 por la treonina (M467T)²³. En un cierto número de familias, sin embargo, no pudieron detectarse mutaciones, por lo que no está aún completamente determinado si los tres fenotipos de cistinuria se deben a mutaciones alélicas del mismo gen o dependen de mutaciones en genes diferentes⁷.

SINDROME DE FANCONI

El síndrome de *DeToni-Debré-Fanconi*, o simplemente síndrome de *Fanconi*, designa un grupo de enfermos que presentan en común una disfunción múltiple del túbulo proximal, caracterizada por un trastorno de la reabsorción de glucosa, aminoácidos, fosfato y con frecuencia también de bicarbonato. Hoy día el término de síndrome de Fanconi se utiliza indiscriminadamente para designar cualquier disfunción tubular proximal compleja, sea completa o parcial, e independientemente de la etiología responsable. Puede aparecer con carácter idiopático, ser secundario a enfermedades genéticas y adquiridas o estar causado por medicamentos y tóxicos.

El síndrome de Fanconi está probablemente causado por un daño enzimático no específico de la célula tubular proximal, que afectaría a algún componente metabólico de importancia crítica en la función de transporte. La multitud de toxinas, endógenas y exógenas, que pueden dar origen a este cuadro hacen presuponer lo poco específica que precisa ser dicha lesión renal. El conocimiento de la fisiopatología del síndrome de Fanconi humano de tipo hereditario es limitado, pero su desarrollo parece depender de un trastorno metabólico de la célula tubular proximal que interfiere con la función de una serie de transportadores Na-dependientes de la membrana luminal: recambiador Na-H, cotransportador Na-glucosa, cotransportador Na-fosfato, cotransportador Na-urato, etc. La hiperkaliuria no parece ser un trastorno

primario, sino la consecuencia de la llegada de grandes cantidades de bicarbonato al túbulo colector cortical en circunstancias de secreción aumentada de aldosterona. No existen genes candidatos precisos para explicar el síndrome de Fanconi.

Una primera hipótesis consiste en una incapacidad de mantener el gradiente de sodio entre luz tubular e interior de célula tubular proximal, debido a una de las causas siguientes: aumento de la permeabilidad al sodio de la membrana celular, disminución de la Na-K-ATPasa situada en la membrana baso-lateral, disminución de la generación de ATP por otro origen o pérdida de la masa celular del túbulo proximal²⁷. La hipótesis más probable es que el síndrome de Fanconi dependa de una disminución de la actividad de la bomba Na-K-ATPasa, hecho ya demostrado en el síndrome de Fanconi experimental inducido por ácido maleico²⁸, aunque no en casos humanos.

Una segunda hipótesis busca el gen candidato en una posible alteración de la permeabilidad de la membrana apical o baso-lateral del túbulo proximal que produciría un escape de sodio del interior de la célula. Esta hipótesis no se corresponde con los estudios realizados en el síndrome de Fanconi inducido por ácido maleico²⁷, pero sí con estudios realizados en perros Basenji con síndrome de Fanconi hereditario, en los que se demuestra una alteración del contenido en colesterol de las membranas tubulares proximales²⁹. Es interesante señalar el caso de síndrome de Fanconi idiopático reportado por Manz y cols.³⁰, en el que existía una ausencia completa del reborde en cepillo de las células tubulares proximales. Cabe concluir que la búsqueda del gen o genes causales del síndrome de Fanconi prosigue y no se limita a las hipótesis mencionadas. Una alteración del metabolismo oxidativo mitocondrial, una anomalía del proceso de endocitosis/exocitosis de la membrana celular o un trastorno de la transmisión de los mensajeros intracelulares podrían también estar implicados. En este sentido, el descubrimiento del gen causal del síndrome óculo-cerebro-renal de Lowe es aleccionador, ya que fue un hallazgo completamente inesperado el situarlo en el metabolismo intracelular del trifosfato de inositol.

El *síndrome óculo-cerebro-renal de Lowe* asocia una tubulopatía proximal compleja con un retraso mental grave y anomalías congénitas oculares y neurológicas. Se hereda con un carácter recesivo ligado al sexo, por lo que se manifiesta clínicamente en varones³¹. El locus causal (OCRL) ha sido localizado en la región q26 del cromosoma X^{32, 33}. Ocasionalmente el síndrome de Lowe se expresa en mujeres, lo que es, generalmente, explicado por la hipótesis de Lyon o por la existencia de heterogeneidad genética. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que la

causa más probable de la aparición en mujeres es una translocación a un autosoma del segmento de la X conteniendo el gen, con inactivación preferencial de la X íntegra. Utilizando el punto de rotura de la translocación como marcador genético ha sido posible el aislamiento del gen implicado, que parece codificar una proteína muy semejante al inositol fosfato-5-fosfatasa³⁴.

La *cistinosis* es un error congénito del metabolismo, heredado de modo autosómico recesivo, que se caracteriza bioquímicamente por una elevación del contenido intracelular de cistina libre, que se acumula específicamente en el interior de los lisosomas. El resultado es la precipitación de cistina en forma de cristales en todos los tejidos del organismo, con la posible excepción de músculo involuntario y cardíaco. La acumulación de cistina acaba provocando la muerte celular a través de la inhibición de numerosos sistemas enzimáticos. En la forma infantil o nefropática, el síndrome de Fanconi constituye la manifestación inicial y se sigue de alteraciones oculares, tiroideas, hepáticas, pancreáticas, cerebrales, musculares, etc.³⁵. El defecto básico parece residir en la membrana de los lisosomas, impidiendo la salida de la cistina acumulada en su interior, pero ningún gen candidato preciso ha sido aún enunciado. Sin embargo, estudios de clonación posicional en familias afectas han permitido localizar el gen causal en el brazo corto del cromosoma 17³⁶, por lo que cabe esperar que posibles genes candidatos situados en dicha región cromosómica serán pronto propuestos.

Una forma particular de síndrome de Fanconi hereditario se observa en el curso de *mutaciones o deleciones del genoma mitocondrial* que afectan a los genes que controlan el funcionamiento de la cadena respiratoria celular³⁷. Este síndrome de Fanconi se observa en el contexto de otras manifestaciones sistémicas y puede revelarse precozmente por su asociación con miopatía o encefalomiopatía y con acidosis láctica³⁸. Las formas más comunes se deben a alteraciones de los genes reguladores del complejo III (ubiquinol: citocromo-c-oxidorreductasa)^{39, 40} y del complejo IV (citocromo-c-oxidasa)^{41, 42}.

ACIDOSIS TUBULAR RENAL

La *acidosis tubular renal* (ATR) representa un síndrome clínico de acidosis metabólica causado por un defecto de reabsorción tubular renal de bicarbonato y/o de excreción urinaria de ion hidrógeno. En este síndrome, a diferencia de lo que ocurre en la llamada acidosis urémica, la función glomerular es normal o está comparativamente menos afectada que la función tubular. Aunque desde el punto de vista etioló-

gico responde a numerosas causas, endógenas y exógenas, desde el punto de vista clínico y fisiopatológico se puede clasificar en tres grandes categorías: a) *ATR proximal o tipo 2*; b) *ATR distal o tipo 1*, y c) *ATR hipercaliémica o tipo 4*⁴³.

La *ATR proximal* puede ser observada raramente como una entidad primaria de carácter hereditario, ya que es más habitual que aparezca en el contexto del síndrome de Fanconi o esté causada por la administración de drogas o tóxicos. Dentro de las formas primarias familiares existe una forma transmitida con carácter autosómico dominante que se manifiesta con retraso de crecimiento, sin anomalías asociadas, y una forma transmitida con carácter autosómico recesivo, en la que el enanismo se acompaña de retraso mental y anomalías oculares diversas. Aunque existen posibles genes candidatos, aún no se han reportado estudios de genética molecular en seres humanos referidos a esta entidad. Una función de acidificación proximal alterada podría teóricamente depender de defectos aislados o combinados del cotransportador luminal Na-H, del cotransportador basolateral Na-HCO₃, de las anhidrasas carbónicas II o IV y de la H-ATPasa luminal²⁷. Muchos de los genes que codifican estas enzimas o proteínas transportadoras han sido ya clonados o localizados en el genoma, por lo que cabe esperar que el estudio de familias afectas se seguirá en breve plazo⁴⁴.

La *ATR distal* adopta casi siempre, en el niño, un carácter primario, mientras que en el adulto es más frecuentemente secundaria a alteraciones autoinmunes. Aunque la forma primaria aparece frecuentemente como esporádica, puede, en algunos casos, responder a una herencia autosómica dominante. Por el contrario, la forma asociada a sordera nerviosa presenta siempre un carácter familiar y se transmite por herencia autosómica recesiva. Los genes candidatos más plausibles son los que codifican los transportadores de ion hidrógeno en la membrana luminal de los túbulos distal y colector, es decir, la H-ATPasa y la H,K-ATPasa. De hecho, estudios inmunoquímicos han podido ya demostrar la ausencia de H-ATPasa vacuolar en biopsias renales de enfermos con ATR distal asociada a síndrome de Sjögren^{45, 46}. Kurtzman ha propuesto la hipótesis de que las formas marcadamente hipocaliémicas estarían causadas por un defecto funcional de la H,K-ATPasa, mientras que las formas normocaliémicas se deberían a un defecto funcional de la H-ATPasa^{27, 47}, pero esta hipótesis necesita confirmación. La aplicación de la genética molecular al estudio de las acidosis tubulares están aún en sus inicios y desconocemos los genes implicados no sólo en las diversas formas clínicas, sino también en las diversas formas de transmisión hereditaria. Es posible que el uso de la técnica de hibridización *in*

situ en biopsias renales de estos enfermos contribuya pronto a esclarecer el problema⁴⁸.

Una forma hereditaria particular de acidosis tubular renal es la asociada a osteopetrosis y calcificaciones cerebrales, causada por una *deficiencia de anhidrasa carbónica II*⁴⁹. La anhidrasa carbónica II, de acción intracitoplásmica, está codificada por un gen situado en la región 8q22⁵⁰, mientras que la anhidrasa carbónica IV, de acción intraluminal, está codificada en 17q⁵¹. Se han descrito diversas mutaciones puntuales en pacientes afectados del síndrome de osteopetrosis con acidosis tubular renal^{52,53}. Queda por determinar si la heterogeneidad funcional detectada en muchos de estos enfermos se explica o no por una heterogeneidad genética. Es interesante mencionar que existen unos ratones mutantes que carecen de anhidrasa carbónica II en riñones y cerebro y que sólo expresan un síndrome de acidosis tubular renal, sin osteopetrosis ni calcificaciones cerebrales asociadas⁵⁴.

La *ATR hipercaliémica* ha sido identificada en pacientes con hiperpotasemia de diverso origen, incluyendo pacientes con hipoaldosteronismo, tanto primario como asociado a hiporreninemia, y pseudohipoaldosteronismo. Las formas hereditarias de esta entidad se asocian, por lo general, con trastornos del transporte tubular renal de sodio.

PEUDOHIPOALDOSTERONISMO TIPO 1

Constituye una entidad poco frecuente, de aparición neonatal y caracterizada por deshidratación, retraso de crecimiento, pérdida salina renal, hiponatremia, hipercaliemia y acidosis metabólica. La elevación de los niveles plasmáticos de renina y aldosterona hizo sugerir la existencia de una resistencia periférica a la acción de esta última hormona. Existe una forma clínica más frecuente, de herencia aparentemente autosómica dominante, en la que la resistencia a la aldosterona está limitada al riñón. En una segunda forma clínica, más infrecuente y de mayor gravedad, heredada con carácter autosómico recesivo, la resistencia a la aldosterona está presente en numerosos órganos, incluidos riñón, colon, glándulas salivares y glándulas sudoríparas⁵⁵.

Aunque diversos estudios realizados en leucocitos mononucleares circulantes sugirieron la existencia de una anomalía hereditaria de los receptores a la aldosterona⁵⁶, la aplicación reciente de técnicas de biología molecular ha permitido asegurar de manera concluyente que, al menos en la forma exclusivamente renal, no existe ninguna mutación demostrable en el gen codificador de dicho receptor⁵⁷⁻⁵⁹. Ante este hecho, la búsqueda del gen candidato se ha dirigido a una posible alteración hereditaria del gen codificador

del canal epitelial de sodio sensible al amiloride. Este transportador está formado por tres subunidades denominadas α , β y γ . Las tres subunidades son estructuralmente muy similares y cada una consta de dos dominios intramembranosos con ambos residuos amino- y carboxi-terminales situados intracitoplásmicamente⁶⁰. El gen codificador de la cadena α (α ENaC) está localizado en 12p13, mientras que los genes codificadores de la cadena β (β ENaC) y γ (γ ENaC) están localizados ambos en 16p12⁶¹. Estudios muy recientes, en los que hemos colaborado, han podido demostrar en un paciente la existencia de una mutación tipo «splice» en el intrón 11 del gen codificador de la subunidad β ⁶². Aunque este hallazgo debe ser corroborado en otros enfermos, sugiere que alteraciones del canal epitelial de sodio pueden ser la causa del pseudohipoaldosteronismo tipo I de transmisión hereditaria.

SINDROME DE LIDDLE

El síndrome de Liddle, transmitido con carácter autosómico dominante, asocia hipertensión arterial con hipocaliemia, alcalosis metabólica y supresión de las secreciones de renina y de aldosterona⁶³. El cuadro clínico mejora tras la administración de un antagonista del canal epitelial de sodio como es el triamtereno, pero no tras la administración de espironolactona, un antagonista del receptor a la aldosterona. Estos hechos permitieron sugerir que el síndrome de Liddle estaba causado por una reabsorción excesiva de sodio en la nefrona distal que inducía un cuadro de hipervolemia mantenida⁶⁴. Estudios recientes han permitido demostrar que esta entidad está causada por defectos moleculares de los genes codificadores de las cadenas constitutivas del canal epitelial de sodio. Hasta el momento se han demostrado mutaciones «nonsense» de las subunidades β ⁶⁵ y γ ⁶⁶ y una mutación «missense» de la unidad β ⁶⁷. Cualquiera de estas alteraciones puede activar el canal de sodio de manera permanente, permitiendo así la hiperreabsorción incontrolada de este catión. Aunque el síndrome de Liddle constituye un síndrome poco frecuente, los mencionados hallazgos abren perspectivas insospechadas en el entendimiento patofisiológico de otras formas más comunes de hipertensión arterial⁶⁰.

DEFICIENCIA DE 11 β -HIDROXIESTEROIDE DESHIDROGENASA

Esta entidad, heredada con carácter autosómico dominante, se caracteriza por un cuadro clínicamente muy semejante al síndrome de Liddle, ya que también asocia hipertensión arterial, alcalosis metabólica hipocaliémica, hiporreninemia y ausencia de secre-

ción de ningún mineralocorticoide conocido⁶⁸. La respuesta favorable a la administración de dexametasona permite diferenciarle clínicamente del síndrome de Liddle⁵⁵. Hoy día se sabe que la 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (11 β -HSD) juega un papel fundamental en la determinación de la especificidad de los receptores tipo I. En condiciones normales, la 11 β -HSD convierte el cortisol en cortisona, lo que permite que los receptores tipo I queden libres y puedan ligar preferentemente aldosterona. Cuando dicho enzima es funcionalmente deficiente, la elevada concentración intrarrenal de cortisol permite la ligazón del mismo a dicho receptor, dando origen a un exceso aparente de secreción de mineralocorticoides⁶⁹. Existen dos isoenzimas de la 11 β -HSD: el isoenzima tipo 1 es fundamentalmente hepático, mientras que el isoenzima tipo 2 es fundamentalmente renal⁷⁰. Tanto el gen de 11 β -HSD1, localizado en el cromosoma 1⁷¹, como el gen de 11 β -HSD2, localizado en 16q22⁷², han sido clonados. Hasta el momento no se han podido demostrar mutaciones en el gen del isoenzima 1⁷³, pero se ha detectado una mutación «missense» en el gen del isoenzima 2 en dos individuos afectos de este síndrome⁷⁴.

SINDROMES DE BARTTER Y GITELMAN

El *síndrome de Bartter* define una enfermedad hereditaria, autosómica recesiva, caracterizada por alcalosis metabólica, hipocaliemia, hiperaldosteronismo con tensión arterial normal, hiperprostaglandinismo e hiperplasia del aparato yuxtaglomerular⁷⁵. La patogenia del síndrome de Bartter no está completamente elucidada, pero se acepta que la causa primaria reside en un defecto tubular renal de reabsorción de ClNa a nivel de la nefrona distal⁷⁶.

La similitud de los hallazgos clínicos del síndrome de Bartter con aquellos presentes tras administración crónica de un diurético de asa, como es la furosemida, ha hecho sugerir que el gen candidato más probable sea el cotransportador de Na-K-2 Cl situado en la membrana luminal de la rama gruesa del asa ascendente de Henle⁵⁵. Este cotransportador ha sido recientemente clonado en la especie humana, por lo que cabe esperar que los estudios en curso permitan pronto demostrar esta hipótesis⁷⁷.

Es importante diferenciar el síndrome de Bartter observado en el niño pequeño de un cuadro clínico muy semejante (*hipocaliemia-hipomagnesemia familiar* o *síndrome de Gitelman*) observado fundamentalmente en niños mayores y adultos, caracterizado clínicamente por episodios repetidos de tetania y bioquímicamente por la presencia de hipocaliemia, alcalosis metabólica, hipomagnesemia e hipocalciu-

ria^{78,79}. Parece existir heterogeneidad genética, aunque la mayoría de los casos presentan una herencia autosómica recesiva⁸⁰. El cuadro clínico es muy semejante al observado tras administración crónica de tiacidas, por lo que se ha sugerido que el gen candidato más probable es el cotransportador Na-Cl, sensible a las tiacidas⁸¹. Este cotransportador se expresa preferentemente en la membrana luminal del túbulo contorneado distal⁸², y ha sido también recientemente clonado en la especie humana y localizado en 16q13⁷⁷. Estudios muy recientes en una cohorte de 30 enfermos pertenecientes a 12 familias no relacionadas han confirmado que mutaciones de este gen son responsables del síndrome. Se han identificado 17 variantes moleculares en 26 alelos mutados, incluyendo homocigotos y heteocigotos compuestos⁸³. Es importante señalar que dos de las familias estudiadas habían sido referidas por nefrólogos españoles^{84,85}.

DIABETES INSIPIDA NEFROGENICA HEREDITARIA

Esta entidad, transmitida en la mayoría de las familias por herencia recesiva ligada al sexo, se caracteriza por una incapacidad de concentrar la orina, a pesar de la existencia de niveles circulantes elevados de hormona antidiurética (o vasopresina) o de la administración de dosis elevadas de esta hormona. Los varones afectos presentan una marcada poliuria hiposmolar desde el nacimiento, lo que da origen a hiperelectrolitemia crónica y episodios repetidos de deshidratación. De no reconocerse y tratarse la enfermedad precozmente aparece un crecimiento alterado y existe riesgo de retraso mental. Las mujeres están aparentemente indemnes, pero pueden presentar un defecto de concentración de intensidad variable^{86,87}.

Está bien establecido que el defecto primario se sitúa a nivel de los receptores renales V2, que son los que median la acción de la hormona antidiurética, por lo que el gen codificador de la síntesis de estos receptores V2 fue considerado como un posible gen candidato⁸⁸. Estudios iniciales de «linkage» asignaron el locus de la diabetes insípida renal a una zona subtelomérica del brazo largo del cromosoma X (Xq28)⁸⁹. Más recientemente se ha podido demostrar la certeza de la hipótesis anterior, ya que dos laboratorios han clonado el gen del receptor V2 y lo han asignado al mismo locus, Xq28^{90,91}. Hasta el momento se han podido identificar más de 60 defectos moleculares distintos, desde mutaciones «missense» y pequeñas deleciones o inserciones hasta mutaciones «nonsense» o grandes deleciones que dan origen a un polipéptido estructuralmente muy alterado⁹². Las diferentes alteraciones moleculares parecen originar al menos tres fenotipos distintos, que afectan la capa-

cidad de ligamiento, el transporte intracelular y la biosíntesis o degradación del receptor V2⁹³. El hallazgo en USA de mutaciones diversas del gen del receptor V2 ha permitido desestimar la hipótesis formulada en 1969 por Bode y Crawford, que establecía que todas las familias norteamericanas afectas descendían de ancestros escoceses comunes que habían llegado a Halifax en 1761 en el barco «Hopewell»⁹⁴.

Existe una forma de diabetes insípida nefrogénica mucho menos frecuente, que es heredada de manera autosómica recesiva. Evidentemente, en estas familias no puede estar implicada una alteración del gen del receptor V2, por lo que se consideró que un posible gen candidato era el codificador de la proteína que ejerce la función de canal acuoso en el túbulo colector, la llamada acuoporina^{95,96}. Existen diversas acuoporinas: la acuoporina-1 (también llamada CHIP28) está presente en las membranas apical y basolateral de los túbulos proximales y asa descendente de Henle, así como en numerosos tejidos extrarrenales; la acuoporina-2 está fundamentalmente presente en membranas apicales y vesículas intracelulares del túbulo colector y responde específicamente a la acción de la vasopresina; la acuoporina-3 reside en membranas basolaterales de las células principales del túbulo colector y permite la salida del agua intracelular; y la acuoporina-4 es abundante en tejido cerebral, donde aparentemente funciona como un osmorreceptor hipotalámico responsable de la secreción de hormona antidiurética^{97,98}. El gen de la acuoporina-2 ha sido localizado en el hombre en la región 12q13^{99,100}. Tres mutaciones «missense» y la delección de un nucleótido en este gen han sido ya descritas como causa de diabetes insípida nefrogénica de herencia no ligada al sexo^{101,102}. Estudios funcionales en ovocitos de *Xenopus* han demostrado que las proteínas codificadas por un gen defectuoso no pueden funcionar como canales acuosos, ya que son incapaces de incorporarse a la membrana celular¹⁰³.

La aparición en una mujer de una clínica de poliuria compatible con el diagnóstico de diabetes insípida nefrogénica no afirma obligadamente que se trate de una forma de herencia autosómica, ya que la forma ligada al sexo puede también manifestarse excepcionalmente en individuos heretocigotos para una mutación del gen del receptor V2. Esto ocurre, de acuerdo con la hipótesis de Lyon, por una inactivación aumentada de los cromosomas X portadores del alelo no mutado^{104,105}.

RAQUITISMO HIPOFOSFATEMICO FAMILIAR

Esta entidad, también llamada *raquitismo vitamino-D resistente hipofosfático* o *hipofosfatemia fa-*

miliar ligada al sexo, se caracteriza por retraso de crecimiento y lesiones radiológicas de raquitismo con deformidades de las extremidades inferiores. La calcemia es normal, pero existe siempre hipofosfatemia y elevación en sangre de la fosfatasa alcalina. La enfermedad se transmite a través de una herencia dominante ligada al sexo, aunque pueden existir también formas aparentemente esporádicas¹⁰⁶. Estudios de «linkage» han localizado la mutación causal en la región Xp22¹⁰⁷⁻¹⁰⁹. Existen mutaciones espontáneas que dan un síndrome similar en ratones (la llamada mutación HYP) y que también ha sido localizada en el cromosoma X¹¹⁰⁻¹¹².

Fisiopatológicamente, la enfermedad se caracteriza por un trastorno de reabsorción tubular de fosfato inorgánico, lo que da origen a una marcada hiperfosfatúria. La hipótesis inicial fue que se trataba de una alteración hereditaria del transporte transtubular a nivel del túbulo contorneado proximal. Sin embargo, los genes que codifican los cotransportadores Na-fosfato han sido excluidos, ya que no se localizan en el cromosoma X, sino en los cromosomas 5 y 6^{113,114}. Por otra parte, existe evidencia de que la alteración fundamental no se sitúa en el riñón, sino que es consecuencia de la secreción de una sustancia hiperfosfatúrica. El papel patogénico de este factor humoral ha sido demostrado en el ratón HYP mediante estudios de parabiosis^{115,116}. Recientemente se ha identificado un posible gen candidato en la región X22.1¹¹⁷. Este gen, que ha sido denominado PEX, forma parte de la familia de genes que controlan la síntesis de endopeptidasas, enzimas que intervienen en la degradación de las hormonas peptídicas. Por el momento se han podido demostrar tanto delecciones como mutaciones puntuales de este gen PEX en enfermos afectados de hipofosfatemia familiar. Si este hallazgo se comprueba ofrece un enorme interés y demostraría indirectamente la existencia de una sustancia fosfatúrica responsable del síndrome y aún no identificada.

UROLITIASIS FAMILIAR CON HERENCIA LIGADA AL SEXO

Esta entidad, presente únicamente en varones, asocia durante la infancia nefrolitiasis y una tubulopatía proximal compleja tipo Fanconi con proteinuria e hipercalcúria, mientras que durante la edad adulta se manifiesta por litiasis e insuficiencia renal crónica^{118,119}. Aunque reportada como una nueva entidad, parece tratarse de la misma enfermedad descrita en 1964 por Dent y Friedman¹²⁰ y revisada recientemente por Wrong y cols.¹²¹. Estudios de «linkage» genético en la familia descrita por Scheinman permitieron localizar el gen causal en

una región precisa del brazo corto del cromosoma X (Xp11.22)¹²². Aún más recientemente se ha podido identificar el gen causal, que codifica la síntesis de un canal de cloro, el llamado CLCN5^{123, 124}. Este canal de cloro forma parte de una amplia familia de canales de cloro voltaje-dependientes. El CLCN5 parece ser importante para el funcionamiento tubular, y específicamente para la regulación de la reabsorción renal de calcio¹²⁵. El hallazgo de que mutaciones o deleciones de este gen dan origen a una enfermedad renal con hipercalciuria y litiasis ofrece un gran interés, ya que la alteración de otro gen de la misma familia, el CLCN1, no es responsable de una nefropatía tubular, sino de un cuadro de miotonía muscular^{126, 127}.

PERSPECTIVAS FUTURAS

El objetivo básico de la Medicina es curar totalmente la enfermedad, lo que en el campo de las enfermedades hereditarias significa reparar completamente la alteración genética. Este ideal ha dejado de ser un sueño y numerosas investigaciones permiten concluir que la llamada *terapéutica génica* va a constituir en un futuro no demasiado lejano un método terapéutico aplicable al ser humano^{128, 129}.

La terapéutica génica consiste en la introducción en el genoma del individuo afecto de un fragmento de DNA que codifica la proteína cuya síntesis es genéticamente defectuosa. Esta transferencia se efectúa, por lo general, utilizando vectores virales y exige que estos vectores se dirijan específicamente al tejido donde debe expresarse el gen transferido. Por otra parte, las células implicadas deben dividirse rápidamente para que la expresión del gen sea clínicamente significativa. En el momento actual, las investigaciones experimentales se dirigen fundamentalmente al estudio de la transferencia génica en algunos modelos de enfermedades hereditarias, tales como deficiencia de adenosina deaminasa, fibrosis quística del páncreas, hemofilia, hipercolesterolemia familiar o cáncer, pero cabe suponer que esta terapéutica va a ser también posible en el futuro en las nefropatías hereditarias^{130, 131}. De hecho, la posibilidad de transferir α -galactosidasa bacteriana al tejido renal de rata utilizando un vector retroviral ha sido ya demostrada experimentalmente¹³². También se ha reportado la transferencia a riñón de ratas de los genes de factor transformador del crecimiento (TGFB) y del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF-B), lo que induce en las mismas una glomerulosclerosis¹³³. La demostración por estos investigadores de que es posible introducir un gen exógeno en riñón abre un nuevo futuro en el tratamiento de las nefropatías tu-

bulares hereditarias. De hecho, un primer intento experimental ha permitido corregir parcialmente la deficiencia en anhidrasa carbónica II presente en ratones mutados¹³⁴. Sin duda, durante los próximos años se producirán enormes avances en este terreno, para alcanzar la perspectiva, desgraciadamente aún muy lejana, de incorporar estos tratamientos a la práctica general de la Nefrología y así evitar el enorme impacto que estas enfermedades crónicas tienen sobre la salud.

Bibliografía

- Rodríguez Soriano Jy Vallo A: Tubulopatías. En: *Tratado de Nefrología*. Martínez-Maldonado M, Rodicio JL y Herrera-Acosta J(eds.). Ediciones Norma, Madrid, 1993, p. 865.
- Ansiello DA: Renal transport mechanisms. *Seminars Nephrol* 13:472-478, 1993.
- Miller RT: The impact of molecular biology in understanding renal signal transduction. *Seminars Nephrol* 12:516-523, 1992.
- Reeders ST, Breuning MH, Davies Ke y cols.: A highly polymorphic DNA marker linked to adult polycystic kidney disease on chromosome 16. *Nature* 317:542-544, 1985.
- International Symposium on Hereditary Nephropathies: Heidelberg, 6-8 octubre 1986. *Pediatr Nephrol* 1:383-560, 1987.
- Knebelman B, Antignac C, Gubler C y Grunfeld JP: A molecular approach to inherited kidney disorders. *Kidney Int* 44:1205-1216, 1993.
- Huay-Woodford LM: Molecular insights into the pathogenesis of inherited renal tubular disorders. *Current Opinion Nephrol Hypert* 4:121-129, 1995.
- Salido E: Análisis del DNA: Mapping genético y mapping físico. *Nefrología* 13:512-525, 1993.
- Bernatowicz L y Jonas AJ: Molecular basis of genetic disease. En: *Pediatric Nephrology*, Holliday MA, Barrat TM y Avner ED (eds.). Williams-Wilkins, Baltimore, 1994, p. 458.
- Collins FS: Positional cloning: Let's not call it reverse genetics anymore. *Nature Genetics* 1:3-6, 1992.
- Germino GG y Somio SA: Positional cloning approach to inherited renal disease. *Seminars Nephrol* 12:541-553, 1992.
- Roelofsma JH, Breuning MH y European PKD1 Consortium: The long walk toward the PKD1 gene. *Adv Nephrol* 25:131-145, 1996.
- Collins FS: Positional cloning moves from perditional to traditional. *Nature Genetics* 9:347-350, 1995.
- Brodehl J, Oemar BS y Hoyer PF: Renal glucosuria. *Pediatr Nephrol* 1:502-508, 1987.
- Hoffman BB y Zyyadeh FN: Facilitative glucose transport proteins and sodium-glucose co-transporters in the kidney. *Current Opinion Nephrol Hypert* 4:406-411, 1995.
- Hediger MA y Rhoads DB: Molecular physiology of sodium-glucose cotransporters. *Physiol Rev* 74:993-1026, 1994.
- De Marchi S, Cecchini SE, Basile A y cols.: Close genetic linkage between HLA and renal glucosuria. *Am J Nephrol* 4:280-286, 1984.
- Segal S y Thier S: Cystinuria. En: *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 6.ª ed. Scriver C, Beaudet A, Sly W y Valle D (eds.). McGraw-Hill, New York, 1989, p. 2479.
- Pras E, Arber N, Aksentjevich I y cols.: Localization of a gene causing cystinuria to chromosome 2p. *Nature Genetics* 6:415-419, 1994.
- Silbernagl S: The renal handling of amino acids and oligopeptides. *Physiol Rev* 68:911-1007, 1988.

21. Kinne RKH: Amino acid transporters. *Current Opinion Nephrol Hypert* 4:412-415, 1995.
22. Calonge MJ, Nadal M, Calvano S y cols.: Assignment of the gene responsible for cystinuria (rBAT) and of markers D2S119 and D2S117 to 2p16 by fluorescence in situ hybridization. *Hum Genet* 95:633-636, 1995.
23. Calonge MJ, Gasparini P, Chillarón J y cols.: Cystinuria caused by mutations in rBAT, a gene involved in the transport of cystine. *Nature Genetics* 6:420-425, 1994.
24. Bertrán J, Werner A, Moore M y cols.: Expression cloning of a cDNA from rabbit kidney cortex that induces a single transport system for cystine and dibasic and neutral amino acids. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:5601-5605, 1992.
25. Bertrán J, Werner A, Chillarón J y cols.: Expression cloning of a human renal cDNA that induces high affinity transport of L-cystine shared with dibasic amino acids in *Xenopus* oocytes. *JBiol Chem* 268:1482-1489, 1993.
26. Furriols M, Chillarón J, Mora C y cols.: rBAT related to L-cystine transport is localized in microvilli of proximal straight tubules and its expression is regulated in kidney by development. *JBiol Chem* 268:27060-27068, 1993.
27. Eiam-Ong S, Laski ME y Kurtzman NA: Diseases of renal adenosine triphosphatase. *Am J Med Sci* 309:13-25, 1995.
28. Eiam-Ong S, Spohn M, Kurtzman NA y Sabatini S: Insights into the biochemical mechanism of maleic acid-induced Fanconi syndrome. *Kidney Int* 48:1542-1548, 1995.
29. Hsu BYL, Wehrli SL, Yandrasitz JR y cols.: Renal brush border membrane lipid composition in Basenji dogs with spontaneous idiopathic Fanconi syndrome. *Metabolism* 43:1073-1078, 1994.
30. Manz F, Waldherr R, Fritz HP y cols.: Idiopathic DeToni-Debré-Fanconi syndrome with absence of proximal tubular brush border. *Clin Nephrol* 22:149-157, 1984.
31. Charnas LR y Gahl WA: The oculocerebrorenal syndrome of Lowe. En: *Advances of Pediatrics*. Barness LA (ed.). Mosby Year Book, St Louis, 38:75-107, 1991.
32. Reilly DS, Lewisra y Nussbaum RL: Genetic and physical mapping of Xq24-q26 markers flanking the Lowe oculocerebrorenal syndrome. *Genomics* 8:62-70, 1990.
33. Mueller OT, Kartsfield JK, Gallardo LA y cols.: Lowe oculocerebrorenal syndrome in a female with a balanced X;20 translocation: Mapping of the X chromosome breakpoint. *Am J Human Genet* 49:804-810, 1991.
34. Attree O, Olivos I, Okabe I y cols.: The Lowe's oculocerebrorenal syndrome gene encodes a protein highly homologous to inositol polyphosphate-5-phosphatase. *Nature* 358:239-242, 1992.
35. Gahl WA, Renlund M y Thoene J: Lysosomal transport disorders: cystinosis and sialic acid storage disorders. En: *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 6.^a ed. Scriver C, Beaudet A, Sly W y Valle D (eds.). McGraw-Hill, New York, 1989, p. 2619.
36. The Cystinosis Collaborative Research Group: Linkage of the gene for cystinosis to markers on the short arm of chromosome 17. *Nature Genetics* 10:246-248, 1995.
37. Johns DR: Mitochondrial DNA and disease. *N Engl J Med* 333:638-644, 1995.
38. Clarke LA: Mitochondrial disorders in Pediatrics. Clinical, biochemical and genetic implications. *Pediatr Clin N Am* 39:319-334, 1992.
39. Wendel U, Ruitenbeeck W, Bentlage HACM y cols.: Neonatal DeToni-Debré-Fanconi syndrome due to defect in complex III of the respiratory chain. *Eur J Pediatr* 154:915-918, 1995.
40. Morris AMM, Taylor RW, Birch-Machin MA y cols.: Neonatal Fanconi syndrome due to deficiency of complex III of the respiratory chain. *Pediatr Nephrol* 9:407-411, 1995.
41. Di Mauro S, Lombes A, Nakase H y cols.: Cytochrome c oxidase deficiency. *Pediatr Res* 28:536-541, 1990.
42. DAS AM, Schweitzer-Krantz S, Byrd DJ, Brodehl J: Absence of cytochrome c oxidase activity in a boy with dysfunction of renal tubules, brain and muscle. *Eur J Pediatr* 153:267-270, 1994.
43. Rodríguez Soriano J: Renal tubular acidosis. En: *Oxford Textbook of Nephrology*, vol. 1. Cameron S, Davison AM, Grunfeld JP, Kerr D y Ritz E (eds.). Oxford Medical Publications, Oxford, 1992, p. 763.
44. Cano A y Alpern RJ: Molecular cloning of ion transporters: potential clinical implications. *Seminars Nephrol* 15:2-8, 1995.
45. DeFranco PE, Haragsim L, Schmitz PH y Bastani B: Absence of vacuolar H⁺-ATPase pump in the collecting duct of a patient with hypokalemic distal renal tubular acidosis and Sjögren's syndrome. *J Am Soc Nephrol* 6:295-301, 1995.
46. Bastani B, Haragsim L, Gluck S y Siamopoulos KC: Lack of H-ATPase in distal nephron causing hypokalemic distal RTA in a patient with Sjögren's syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 10:908-913, 1995.
47. Kurtzman NA: Disorders of renal acidification. *Kidney Int* 38:720-727, 1990.
48. Barness J y Milani S: In situ hybridization in the study of the kidney and renal disease. *Seminars Nephrol* 15:9-28, 1995.
49. Sly WS, Whyte WP, Sundaram V y cols.: Carbonic anhydrase II deficiency in 12 families with the autosomal recessive syndrome of osteopetrosis with renal tubular acidosis and cerebral calcifications. *N Engl J Med* 313:139-145, 1985.
50. Nakai H, Byers MG, Venta PJ y cols.: The gene for human carbonic anhydrase II (CA2) is located at chromosome 8q22. *Cytogenet Cell Genet* 44:234-235, 1987.
51. Okuyama T, Batanian JR y Sly WS: Genomic organization of the gene for human carbonic anhydrase IV to chromosome 17q. *Genomics* 16:678-684, 1993.
52. Venta PJ, Welty RJ, Johnson TM y cols.: Carbonic anhydrase II deficiency syndrome in a Belgian family is caused by a point mutation at an invariant histidine residue (107His-Tyr): Complete structure of the normal human CA II gene. *Am J Hum Genet* 49:1082-1090, 1991.
53. Roth DE, Venta PJ, Tashian RE y Sly WS: Molecular basis of human carbonic anhydrase II deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:1804-1808, 1992.
54. Ridderstråle Y, Wistrand PJ, Tashian RE: Membrane-associated carbonic anhydrase activity in the kidney of CA II-deficient mice. *JHistochem Cytochem* 40:1665-1673, 1992.
55. Rodríguez Soriano J: Tubular disorders of electrolyte regulation. En: *Pediatric Nephrology*. Holliday MA, Barrat TM y Aver ED (eds.). Williams-Wilkins, Baltimore, 1994, p. 624.
56. Kuhnle U, Nielsen MD, Tietze HU y cols.: Pseudohypoadosteronism in eight families: different forms of inheritance are evidence for various genetic defects. *J Clin Endocrinol Metab* 70:638-641, 1990.
57. Komerassoff PA, Verity K y Fuller PJ: Pseudohypoadosteronism: molecular characterization of the mineralocorticoid receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 79:27-31, 1994.
58. Zennaro MC, Borensztein P, Junemaitre X y cols.: No alteration in the primary structure of the mineralocorticoid receptor in a family with pseudohypoadosteronism. *J Clin Endocrinol Metab* 79:32-38, 1994.
59. Arai K, Tsigos C, Suzuki Y y cols.: No apparent mineralocorticoid receptor defect in a series of sporadic cases of pseudohypoadosteronism. *J Clin Endocrinol Metab* 80:814-817, 1995.
60. Rossler BC: The renal epithelial sodium channel: new insights in understanding hypertension. *Adv Nephrol* 25:275-286, 1996.
61. Voilley N, Bassilana F, Mignon C y cols.: Cloning, chromosomal localization, and physical linkage of the β and γ subunits

- (SCNN1B and SCNN1G) of the human epithelial amiloride-sensitive sodium channel. *Genomics* 28:560-565, 1995.
62. Chang S, Shimkets R, Nelson C y cols.: Examination of epithelial sodium channel genes in pseudohypoaldosteronism type 1. *JAm Soc Nephrol* 6:692, 1995.
 63. Liddle G, Bledsoe T y Coppage W: A familial renal disorder simulating primary aldosteronism but with negligible aldosterone secretion. *Trans Am Assoc Phys* 76:199-213, 1963.
 64. Botero-Vélez M, Curtis Jy Warnock D: Liddle's syndrome revisited-A disorder of sodium reabsorption in the distal tubule. *N Engl JMed* 330:178-181, 1994.
 65. Shimkets RA, Warnock DG, Bositis C y cols.: Liddle's syndrome: heritable human hypertension caused by mutations in the β subunit of the epithelial sodium channel. *Cell* 79:407-414, 1994.
 66. Hansson JH, Nelson-Williams C, Suzuki H y cols.: Hypertension caused by a truncated epithelial sodium channel γ subunit: genetic heterogeneity of Liddle syndrome. *Nature Genetics* 11:76-82, 1995.
 67. Tamura H, Enomoto N, Matsui N y cols.: A family of Liddle's syndrome caused by missense mutation of the β subunit of epithelial sodium channel (β ENaC). *JAm Soc Nephrol* 6:728, 1995.
 68. New MI, Levine LS, Bligieri EG y cols.: Evidence for an unidentified steroid in a child with apparent mineralocorticoid hypertension. *JClin Endocrinol Metab* 44:924-933, 1977.
 69. Benediktsson R, Walker BR y Edwards CRW: Cellular selectivity of aldosterone action: role of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *Current Opinion Nephrol Hypert* 4:41-46, 1995.
 70. Naray-Fejes-Toth A, Watlington CP y Fejes-Toth G: 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in the renal target cells of aldosterone. *Endocrinology* 129:17-21, 1991.
 71. Tannin GM, Agarwal AK, Monder C y cols.: The human gene for 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase. Structure, tissue distribution and chromosome localization. *Biol Chem* 266:16653-16658, 1991.
 72. Albiston AL, Obeyesekere VR, Smith RE y Krozowski ZS: Cloning and tissue distribution of the human 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type II enzyme. *Mol Cell Endocrinol* 105:R11-R17, 1994.
 73. Nikkilä H, Tanning GM, New MI y cols.: Defects in the HSD11 gene encoding 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase are not found in patients with apparent mineralocorticoid excess or 11-oxo-reductase deficiency. *JClin Endocrinol Metab* 77:687-691, 1993.
 74. Wilson RC, Krozowski ZS, Li K y cols.: A mutation in the HSD11B2 gene in a family with apparent mineralocorticoid excess. *JClin Endocrinol Metab* 80:2263-2266, 1995.
 75. Bartter FC, Pronove P, Gill JR J y Maccardle RC: Hyperplasia of juxtaglomerular complex with hyperaldosteronism and hypokalemic alkalosis. *Am JMed* 33:811-828, 1962.
 76. Gill JR J y Bartter FC: Evidence for a prostaglandin-independent defect in chloride reabsorption in the loop of Henle as a proximal cause of Bartter's syndrome. *Am JMed* 65:765-772, 1978.
 77. Gamba G, Miyanoshita A, Lombardi M y cols.: Molecular cloning, primary structure, and characterization of two members of the mammalian sodium-(potassium)-chloride cotransporter family expressed in kidney. *J Biol Chem* 269:17713-17722, 1994.
 78. Gitelman HJ, Graham JB y Welt LG: A new familial disorder characterized by hypokalemia and hypomagnesemia. *Trans Assoc Am Physicians* 79:221-233, 1966.
 79. Betinelli A, Bianchetti MG, Girardin Ey cols.: Use of calcium excretion values to distinguish two forms of primary renal tubular hypokalemic alkalosis: Bartter and Gitelman syndromes. *JPediatr* 120:38-43, 1992.
 80. Betinelli A, Bianchetti MG, Borella P y cols.: Genetic heterogeneity in tubular hypomagnesemia-hypokalemia with hypocalciuria (Gitelman's syndrome). *Kidney Int* 47:547-551, 1995.
 81. Rodríguez Soriano J, Vallo A y García-Fuentes M: Hypomagnesemia of hereditary renal origin. *Pediatr Nephrol* 1:465-472, 1987.
 82. Bachamans S, Velázquez H, Obermüller N y cols.: Expression of the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter by rabbit distal convoluted tubule. *JClin Invest* 96:2510-2514, 1995.
 83. Simon DB, Nelson-Williams, Bia MJ y cols.: Gitelman's variant of Bartter's syndrome, inherited hypokalaemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter. *Nature Genet* 12:24-30, 1996.
 84. Zárraga Larrondo Sy cols.: Familial hypokalemia-hypomagnesemia or Gitelman's syndrome: a further case. *Nephron* 62:340-344, 1992.
 85. Marco-Franco JE, Morey A, Ventura C y cols.: Long-term evolution and growth patterns in a family with Bartter's syndrome. *Clin Nephrol* 42:33-37, 1994.
 86. Knoers N y Monnens LAH: Nephrogenic diabetes insipidus: clinical symptoms, pathogenesis and treatment. *Pediatr Nephrol* 6:476-482, 1992.
 87. Bichet DG: Nephrogenic diabetes insipidus. *Seminars Nephrol* 14:349-356, 1994.
 88. Carmichael MC y Kumar R: Molecular biology of vasopressin receptors. *Seminars Nephrol* 14:341-348, 1994.
 89. Knoers N, Van der Heyden H, Van Oost BA y cols.: Nephrogenic diabetes insipidus: Close linkage with markers from the distal long arm of the human X chromosome. *Human Genet* 80:31-38, 1988.
 90. Birnbaumer M, Seibold A, Gilbert Sy cols.: Molecular cloning of the receptor for antidiuretic hormone. *Nature* 357:333-334, 1992.
 91. Lolait SJ, O'Carroll AM, McBride OW y cols.: Cloning and characterization of a vasopressin V2 receptor and possible link to nephrogenic diabetes insipidus. *Nature* 357:336-339, 1992.
 92. Tsukaguchi H, Matsubara H e Inada M: Expression studies of two vasopressin V2 receptor gene mutations, R202C and 804insG, in nephrogenic diabetes insipidus. *Kidney Int* 48:554-562, 1995.
 93. Tsukaguchi H, Matsubara H, Taketani Sy cols.: Biding-, intracellular transport-, and biosynthesis-defective mutants of vasopressin type 2 receptor in patients with X-linked nephrogenic diabetes insipidus. *JClin Invest* 96:2043-2050, 1995.
 94. Bichet DG, Arthus M-F, Lonergan M y cols.: X-linked nephrogenic diabetes insipidus mutations in North America and the Hopewell hypothesis. *JClin Invest* 92:1262-1268, 1993.
 95. Fushimi K y Marumo F: Water channels. *Current Opinion Nephrol Hypert* 4:392-397, 1995.
 96. Knoers N, Van Lieburg AF, Monnens LAH y cols.: Aquaporins: from physiology to nephrogenic diabetes insipidus. *Adv Nephrol* 25:257-273, 1996.
 97. Nielsewn Sy Agre P: The aquaporin family of water channels in kidney. *Kidney Int* 48:1057-1068, 1995.
 98. Verkman AS, Shi L-B, Frigeri A y cols.: Structure and function of kidney water channels. *Kidney Int* 48:1069-1081, 1995.
 99. Deen PM, Weghuis EL, Sinke RJ y cols.: Assignment of the human gene for the water channel of renal collecting duct aquaporin 2 (AQP2) to chromosome 12 region q12-13. *Cytogenet Cell Genet* 66:260-262, 1994.
 100. Saito F, Sasaki S, Chepelinsky AB y cols.: Human AQP2 and MIP genes, two members of the MIP family, map within chromosome band 12q13 on the basis of two-color FISH. *Cytogenet Cell Genet* 68:45-48, 1995.
 101. Deen PM, Verdijk MA, Joers N y cols.: Requirement of human renal water channel aquaporin-2 for vasopressin-dependent concentration of urine. *Science* 264:92-95, 1994.

102. Van Lieburg AF, Verdijk MA, Knoers N y cols.: Patients with autosomal nephrogenic diabetes insipidus homozygous for mutations in the aquaporin 2 water-channel gene. *Am J Hum Genet* 55:648-652, 1994.
103. Deen PM, Croes H, Van Aubele RAMH y cols.: Water channels encoded by mutant aquaporin-2 genes in nephrogenic diabetes insipidus are impaired in their cellular routing. *J Clin Invest* 95:2291-2296, 1995.
104. Moses AM, Sangani G y Miller J.: Proposed cause of marked vasopressin resistance in a female with an X-linked recessive V2 receptor abnormality. *J Clin Endocrinol Metab* 80:1184-1186, 1995.
105. Van Lieburg AF, Verdijk MA, Schoute F y cols.: Clinical phenotype of nephrogenic diabetes insipidus in females heterozygous for a vasopressin type 2 receptor mutation. *Hum Genet* 96:70-78, 1995.
106. Hanna JD, Niimi K y Chan JCM: X-linked hypophosphatemia. Genetic and clinical correlates. *Am J Dis Child* 145:865-870, 1991.
107. Read AP, Thakker RV, Davies KE y cols.: Mapping of human X-linked hypophosphatemic rickets by multilocus linkage analysis. *Hum Genet* 73:267-270, 1986.
108. Machlewr M, Frey D, Gal A y cols.: X-linked dominant hypophosphatemia is closely linked to DNA markers DXS41 at Xp22. *Hum Genet* 73:271-275, 1986.
109. Thakker RV, Davies KE, Read AP y cols.: Linkage analysis of two cloned DNA sequences, DXS197 and DXS207, in hypophosphatemic rickets families. *Genomics* 8:189-193, 1990.
110. Eicher EM, Southard JL, Scriver CR y Glorieux FH: Hypophosphatemia: mouse model for human familial hypophosphatemic (vitamin D resistant) rickets. *Proc Nat Acad Sci USA* 73:4667-4671, 1976.
111. Scriver CR y Tenenhouse HS: X-linked hypophosphatemia: A homologous phenotype in humans and mice with unusual organ-specific gene dosage. *J Inher Metab Dis* 15:610-624, 1992.
112. Hruska KA, Rifas L, Cheng SL y cols.: X-linked hypophosphatemic rickets and the murine *Hyp* homologue. *Am J Physiol* 268:F357-F362, 1995.
113. Chong SS, Kristjansson K, Zoghbi HY y Hughes MR: Molecular cloning of the cDNA encoding a human renal sodium phosphate transport protein and its assignment to chromosome 6p21.3-p23. *Genomics* 18:355-359, 1993.
114. Kos CH, Lemieux N, Tihy F y cols.: Localization of a renal sodium-phosphate cotransporter gene to human chromosome 5q35. *Genomics* 19:176-177, 1994.
115. Meyer RA Jr, Meyer MH y Gray RW: Parabiosis suggests a humoral factor is involved in X-linked hypophosphatemia in mice. *J Bone Miner Res* 4:493-500, 1989.
116. Meyer RA Jr, Conway GD y Chan JCM: X-linked hypophosphatemia. *Seminars Nephrol* 9:56-61, 1989.
117. The HYP Consortium: A gene (PEX) with homologies to endopeptidases is mutated in patients with X-linked hypophosphatemic rickets. *Nature Genetics* 11:130-136, 1995.
118. Frymoyer PA, Scheinman SJ, Dunham PB y cols.: X-linked-recessive nephrolithiasis with renal failure. *N Engl J Med* 325:681-886, 1991.
119. Reinhart SC, Norden AGW, Lapsley M y cols.: Characterization of carrier females and affected males with X-linked recessive nephrolithiasis. *J Am Soc Nephrol* 5:1451-1461, 1995.
120. Dent CE y Friedman M: Hypercalciuric rickets associated with renal tubular damage. *Arch Dis Child* 39:240-249, 1964.
121. Wrong OM, Norden AGW y Feest TG: Dent's disease: a familial proximal renal tubular syndrome with low-molecular-weight proteinuria, hypercalciuria, nephrocalcinosis, metabolic bone disease, progressive renal failure and marked male predominance. *Q J Med* 87:473-493, 1994.
122. Scheinman SJ, Pook MA, Wooding C y cols.: Mapping the gene causing X-linked recessive nephrolithiasis to Xp11.22 by linkage studies. *J Clin Invest* 91:2351-2357, 1993.
123. Fisher SE, Black GCM, Lloyd SE y cols.: Isolation and partial characterization of a chloride channel gene which is expressed in kidney and is a candidate for Dent's disease (an X-linked hereditary nephrolithiasis). *Hum Mol Genet* 3:2053-2059, 1994.
124. Fisher SE, Van Bakel I, Lloyd SE y cols.: Cloning and characterization of CLCN5, the human kidney chloride channel implicated in Dent disease (an X-linked hereditary nephrolithiasis). *Genomics* 29:598-606, 1995.
125. Pusch M y Jentsch T.J.: Molecular physiology of voltage-gated chloride channels. *Physiol Rev* 74:813-827, 1994.
126. Koch MC, Steinmeyer K, Lorenz C y cols.: The skeletal muscle chloride channel in dominant and recessive human myotonia. *Science* 257:797-800, 1992.
127. George AL, Crackower MA, Abdalla JA y cols.: Molecular basis of Thomsen's disease (autosomal dominant myotonia congenita). *Nature Genet* 3:305-309, 1993.
128. Levine F y Fiedmann T: Gene therapy. *Am J Dis Child* 197:1167-1174, 1993.
129. Blau HM y Springer ML: Gene therapy - A novel form of drug delivery. *N Engl J Med* 333:1204-1207, 1995.
130. Riley DJ y Lee W-H: The potential of gene therapy for treatment of kidney diseases. *Seminars Nephrol* 15:57-69, 1995.
131. Wagner J, Madry H y Reszkar R: *In vivo* gene transfer: focus on the kidney. *Nephrol Dial Transpl* 10:1801-1807, 1995.
132. Woolf AS, Bosch RJ y Fine LG: Gene transfer into mammalian kidney: First steps towards renal gene therapy. *Kidney Int* 43 (Supl. 39):S116-S119, 1993.
133. Isaka Y, Fujiwara Y, Ueda N y cols.: Glomerulosclerosis induced by *in vivo* transfection of transforming growth factor- β or platelet-derived growth factor gene into the rat kidney. *J Clin Invest* 92:2957-2601, 1993.
134. IlLien YH, Moeckel G y Lai L: Gene therapy partially corrects renal tubular acidosis in carbonic anhydrase II deficient mice. *J Am Soc Nephrol* 6:701, 1995.