



## DELETIONS IN THE *NPHP1* GENE AND THEIR ASSOCIATION WITH NEPHRONOPHTHISIS: CASE REPORT



### DELECCIONES EN EL GEN *NPHP1* Y SU ASOCIACIÓN CON NEFRONOPTISIS: REPORTE DE CASO

Lugones A.C.<sup>1,2</sup>, Aguirre N.M.<sup>1</sup>, Guillamondegui M.J.<sup>3</sup>, Iglesias García L.<sup>4</sup>, Erra L.<sup>5</sup>, Tardivo A.<sup>1</sup>, Martínez Mayer J.<sup>4</sup>, Waldman M.<sup>4</sup>, Julián P.<sup>3</sup>, Fernández Robetto A.<sup>3</sup>, Recabarren A.<sup>3</sup>, Pérez Millán M.I.<sup>4</sup>, Martí M.A.<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Bitgenia.

<sup>2</sup> Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur.

<sup>3</sup> Hospital Pediátrico H. Notti. Mendoza.

<sup>4</sup> Instituto de Biociencia, Biotecnología y Biología Traslacional (iB3), Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

<sup>5</sup> Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires (FCEyN-UBA) e Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN) CONICET.

Corresponding author:

Ana C. Lugones  
ana.lugones@bitgenia.com

ORCID 0000-0002-0925-5283

#### ABSTRACT

Nephronophthisis is a hereditary kidney disease with considerable phenotypic variability, characterized by chronic tubulointerstitial nephritis and progression to end-stage renal disease. Approximately 20 genes are associated with either isolated (80–90%) or syndromic (10–20%) forms, most of which follow an autosomal recessive inheritance pattern. This study presents the case of an 11-year-old patient, born to healthy non-consanguineous parents, with chronic renal failure of unknown etiology, associated with polycystic kidney disease. A genomic analysis was performed with the aim of detecting single nucleotide variants and copy number variants in a gene panel associated with the clinical suspicion. Two variants in the *NPHP1* gene were identified in a compound heterozygous state: the c.1897\_1906del p.(Thr633LeufsTer37) variant and a deletion involving the entire gene. These findings suggested juvenile nephronophthisis associated with *NPHP1* as the most likely etiological diagnosis for this patient. For the final classification of the genetic variants, family segregation information and phenotypic data were integrated, implementing the ClinGen and ACMG/AMP guidelines, allowing an accurate interpretation of their pathogenicity.

**Key words:** bioinformatic algorithms, classification guidelines, genomic analyses, nephronophthisis

#### RESUMEN

La nefronoptisis es una enfermedad renal hereditaria con gran variabilidad fenotípica, que se caracteriza por nefritis tubulointersticial crónica y progresión hacia enfermedad renal terminal. Alrededor de 20 genes se asocian a formas aisladas (80–90%) o sindrómicas (10–20%), en su mayoría de herencia autosómica recesiva. En este estudio se presenta el caso de un paciente de 11 años, hijo de padres sanos no consanguíneos, con insuficiencia renal crónica de etiología desconocida, asociada a poliquistosis renal. Se realizó un análisis genómico con el objetivo de detectar variantes de nucleótido único y variantes en el número de copias en un panel de genes asociado a la sospecha clínica. Se identificaron dos variantes en heterocigosis compuesta en el gen *NPHP1*: la variante c.1897\_1906del p.(Thr633LeufsTer37), y una deleción que involucraba al gen completo. Estos hallazgos sugirieron nefronoptisis juvenil asociada a *NPHP1* como diagnóstico etiológico más probable para este paciente. Para la clasificación final de las variantes genéticas, se integró información de segregación familiar y datos fenotípicos, implementando las guías de ClinGen y ACMG/AMP, lo cual permitió establecer una interpretación precisa de su patogenicidad.

**Palabras clave:** algoritmos bioinformáticos, análisis genómicos, guías de clasificación, nefronoptisis

#### Cite this article as:

Lugones A.C., Aguirre N.M., Guillamondegui M.J., Iglesias García L., Erra L., Tardivo A., Martínez Mayer J., Waldman M., Julián P., Fernández Robetto A., Recabarren A., Pérez Millán M.I., Martí M.A. 2025. DELETIONS IN THE *NPHP1* GENE AND THEIR ASSOCIATION WITH NEPHRONOPHTHISIS: CASE REPORT. BAG: Journal of Basic and Applied Genetics XXXVI (1): 9–18.

Received: 12/02/2024

Revised version received: 02/18/2025

Accepted: 03/26/2025

General Editor:

Guillermo Giovambattista

DOI: 10.35407/bag.2025.36.01.01

ISSN online version: 1852-6233

Available online at  
[www.sag.org.ar/jbag](http://www.sag.org.ar/jbag)

## INTRODUCCIÓN

La nefronoptisis (NFP, OMIM 26100) es una enfermedad renal quística autosómica recesiva, y una de las causas genéticas más frecuentes de insuficiencia renal en niños/as y adultos jóvenes (Wolf, 2015). Los síntomas clínicos típicos incluyen poliuria, polidipsia, alteración de la reabsorción de sodio resultante en hipovolemia e hiponatremia, nefritis tubulointersticial crónica y progresión a enfermedad renal terminal (ERT) típicamente antes de los 30 años; aunque también se han informado apariciones más tardías. La NFP se sospecha en ausencia de anomalías congénitas de los riñones y/o del tracto urinario, y cuando se presentan signos o síntomas de enfermedad renal glomerular. La ecografía renal en los estadios iniciales es normal, o revela cambios inespecíficos con un aumento de la ecogenicidad renal, y en la enfermedad renal avanzada se muestra una pobre diferenciación corticomedular; los quistes corticomedulares aparecen en el 70% de los pacientes. En el momento de la presentación inicial, aproximadamente el 80%-90% de las personas con nefronoptisis parecen tener NFP aislada (es decir, todos los hallazgos clínicos evidentes son secundarios a la disfunción renal), y aproximadamente entre 10%-20% de las personas tienen manifestaciones extrarrenales, que pueden ser indicativas de un cuadro sindrómico (Stokman et al., 2023). Estos síndromes presentan características como retinitis pigmentosa (síndrome Senior-Loken, MIM: 266900) o hipoplasia del vermis cerebeloso y otras anomalías multiorgánicas (síndrome de Joubert, MIM: 609583). Otras características extrarrenales incluyen fibrosis hepática, parálisis de la mirada, *situs inversus* y defectos esqueléticos (Simms et al., 2011).

Se reconocen dos fenotipos clínicos generales basados en la edad de inicio para la NFP: un fenotipo de inicio infantil y, más comúnmente, un espectro fenotípico de inicio juvenil, adolescente o adulto. Sin embargo, existe gran variabilidad inter e intrafamiliar, principalmente en la tasa de progresión a ERT (König et al., 2017; Gupta et al., 2021; Stokman et al., 2023).

La prevalencia de esta enfermedad poco frecuente es desconocida. Sin embargo, la incidencia estimada de NFP en Norteamérica es de entre 1/50.000 a 1/100.000 (Luo y Tao, 2018). Además, es la responsable de entre el 2,4-15% de casos de ERT en la infancia. No existe tratamiento específico, por lo que el abordaje se basa en el manejo de la insuficiencia renal crónica y el trasplante renal oportuno (Pitón et al., 2022).

El diagnóstico de NFP se basa en las manifestaciones clínicas y se confirma con una prueba genética positiva. El papel de la biopsia renal en el diagnóstico sigue siendo motivo de debate (Luo et al., 2018). A la fecha, se han identificado variantes genéticas causantes de esta patología en 21 genes en el 50-60% de los

individuos afectados con nefronoptisis. La mayoría de estos genes codifican proteínas ciliares agrupadas en diferentes localizaciones subcelulares. Dentro de estos, se encuentran genes mayormente asociados con NFP, como *NPHP1*, *NPHP4*, *CEP290*, *IQCB1*, *TMEM67*, *INVS*, *NPHP3* y genes poco frecuentes asociados a NFP, como *ADAMTS9*, *ANKS6*, *CEP83*, *CEP164*, *DCDC2*, *GLIS2*, *IFT172*, *MAPKBP1*, *NEK8*, *RPGRIP1L*, *SDCCAG8*, *TTC21B*, *WDR19* y *ZNF423* (Gupta et al., 2021).

Dentro de los casos de NFP juvenil, entre el 20 y 25% poseen mutaciones que causan pérdida de función en el gen *NPHP1*. Este gen codifica para la proteína nefrocistina-1, la cual se expresa principalmente en las células epiteliales ureterales y en los precursores tubulares del riñón (Lindström et al., 2018), y se localiza en la zona de transición de la base ciliar. Esta proteína desempeña un rol fundamental en la morfología adecuada de los cilios (Adamiok-Ostrowska y Piekietko-Witkowska, 2020), y se ha demostrado que las mutaciones en este gen alteran su estructura y función (Leggatt et al., 2023). La expresión a nivel proteico es anormal en células traqueales de pacientes con nefronoptisis, y las células derivadas presentan algunas anomalías sutiles de la motilidad ciliar (Fliegauf et al., 2006).

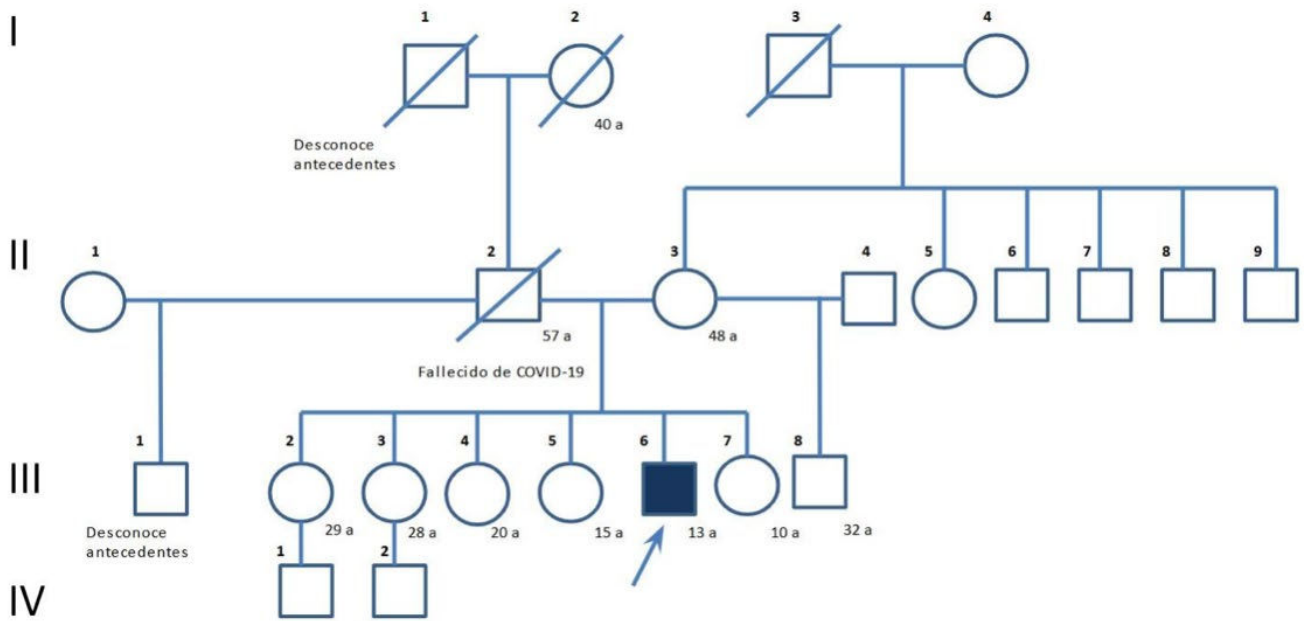
Existen numerosos informes tanto de delecciones homocigotas como de variantes heterocigotas compuestas (Otto et al., 2008; Halbritter et al., 2013), ocasionadas por una variante de pérdida de función junto a una segunda variante, incluyendo aquellas del tipo *missense* (Caridi et al., 2006; Otto et al., 2008; Halbritter et al., 2013).

A continuación, se describe el caso clínico de un niño con diagnóstico presuntivo de nefronoptisis de presentación infantil.

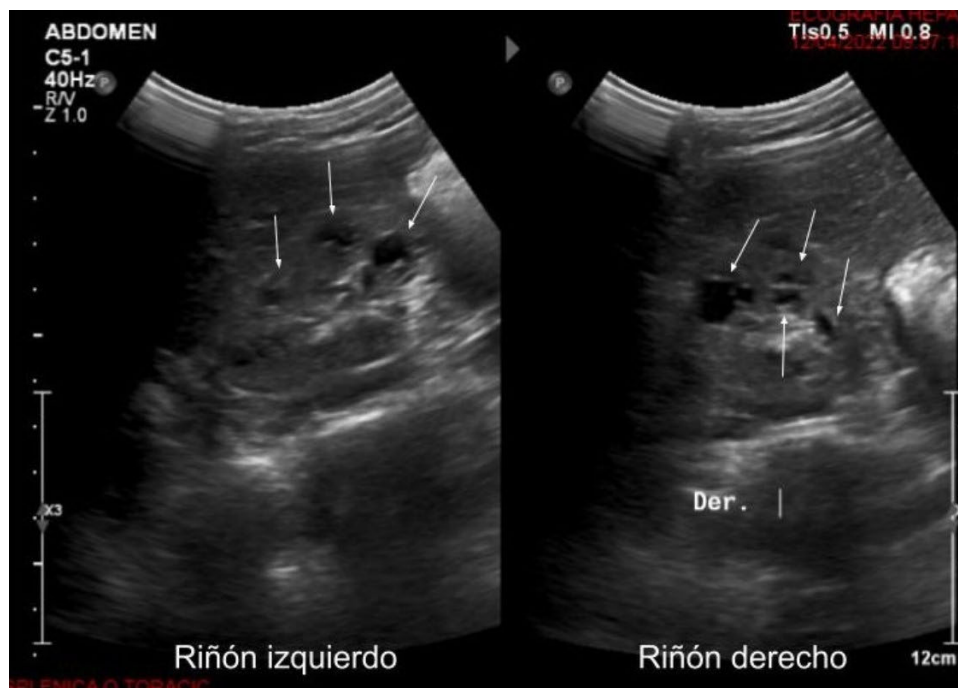
### Presentación del caso

Se presenta al Hospital Pediátrico Dr. Humberto Notti de Mendoza, un niño de 11 años y seis meses, con insuficiencia renal crónica de origen desconocido asociada a poliquistosis renal. Se trata del quinto hijo de una hermandad de seis, de una pareja referida sana no consanguínea. No se rescatan antecedentes familiares renales u otro antecedente de relevancia (Figura 1). El paciente comienza seguimiento multidisciplinario en el mencionado nosocomio desde 2021, por detención del crecimiento, enuresis secundaria, palidez, astenia y dolor óseo, con diagnóstico de anemia y fallo renal. Se constata al examen físico sin dismorfias, baja talla (121,8 cm; percentil <3 y DE: -2,91) y bajo peso (22 kg; percentil <3 y DE: -2,92) con neurodesarrollo acorde a edad.

En su ingreso hospitalario se realizaron múltiples estudios complementarios. Los estudios ecográficos revelaron ecogenicidad aumentada y múltiples imágenes quísticas en ambos riñones (Figura 2). Los valores de laboratorio (Hto: 22%, Hb: 7,3 g/dL, creatinina: 6,53 mg/



**Figura 1.** Genealogía. Pedigree de la familia del probando. Con la flecha se señala el paciente en estudio.



**Figura 2.** Ecografía renal. Se evidencian quistes pequeños entre corteza y médula en ambos riñones, señalados con flechas.

dL, clearance de creatinina: 10 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, uremia: 2,32g/l, K: 4,2 mEq/L, Na: 143 mEq/L, Cl: 91 mEq/L, Ca: 6,9 mg/dL, P: 4,91 mg/dL, Mg: 1,98 mg/dL, estado ácido base -EAB- venoso: pH: 7,19 - PCO<sub>2</sub>: 29,7 mmHg - HCO<sub>3</sub>: 11,6 mmol/l, hormona paratiroidea -PTH: 964 ng/dL, en orina de 24 h: proteinuria: 16 mg/kg/día, densidad urinaria: 1006) fueron compatibles con insuficiencia renal crónica con requerimiento de terapia de reemplazo renal mediante Diálisis Peritoneal Continua Ambulatoria

(DPCA) hasta su trasplante renal con buena respuesta. El fenotipo clínico y los estudios de imágenes orientaron a la sospecha clínica de nefronoptosis.

El objetivo de este estudio fue analizar genes específicos asociados a nefronoptosis en un paciente con sospecha clínica, empleando diversos métodos diagnósticos. La caracterización molecular de la enfermedad contribuirá a un mejor abordaje terapéutico y al asesoramiento genético familiar.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Bajo previo consentimiento informado para la realización del estudio genómico, se procedió a la toma de muestra sanguínea y extracción de ADN. Se realizó secuenciación masiva o *Next Generation Sequencing* (SM o NGS) de exoma completo utilizando el kit de captura *Agilent Sure Select V7*. Posteriormente a la secuenciación, se realizó el procesamiento bioinformático de las lecturas, incluyendo el mapeo y el llamado de variantes mediante la herramienta “HaplotypeCaller” del *Genome Analysis Toolkit* (GATK), lo que posibilitó la generación de un archivo en formato VCF. Las variantes fueron anotadas utilizando los paquetes SnpEff/SnpSift, lo que posibilitó vincular cada variante con información biológica proveniente de bases de datos externas. Finalmente, se procedió a la priorización de variantes en genes candidatos asociados con la nefronoptosis y sus diagnósticos diferenciales: *AHI1, ANKS6, ARMC4, ARL13B, ARL6, B9D1, B9D2, BBS1, BBS10, BBS12, BBS2, BBS4, BBS5, BBS7, BBS9, CC2D2A, CCDC103, CCDC39, CCDC40, CCDC65, CCNO, CEP104, CEP120, CEP164, CEP290, CEP41, CSPP1, C21orf59, C5orf42, CCDC114, CCDC151, DYX1C1, DCDC2, DNAAF1, DNAAF2, DNAAF3, DNAH1, DNAH11, DNAH5, DNAH8, DNAI1, DNAI2, DNAL1, DRC1, DYNC2H1, EVC, EVC2, GAS8, GLIS2, IFT122, IFT140, IFT172, IFT80, INPP5E, INVS, IQCB1, KIAA0586, KIF7, LRRC6, MCIDAS, MKKS, MKS1, NEK1, NEK8, NME8, NPHP1, NPHP3, NPHP4, OFD1, PKD2, PKHD1, RPGR, RPGRIP1L, RSPH1, RSPH3, RSPH4A, RSPH9, SDCCAG8, SPAG1, TCTN1, TCTN2, TCTN3, TMEM138, TMEM216, TMEM231, TMEM237, TMEM67, TRIM32, TTC21B, TTC8, WDPCP, WDR19, WDR34, WDR35, WDR60, ZMYND10, ZNF423*.

Para el *screening* de Variantes en el Número de Copias (o CNVs, del inglés *copy number variants*) se utilizaron los algoritmos bioinformáticos DECoN y ONCOCNV.

Las variantes candidatas fueron clasificadas a partir de las guías de ACMG/AMP (Richards et al., 2015) y las actualizaciones y recomendaciones de ClinGen (<https://clinicalgenome.org/working-groups/sequence-variant-interpretation/>) en el caso de variantes puntuales (SNVs, del inglés *single nucleotide variants*) y pequeñas inserciones y deleciones (*indels*, del inglés *insertions and deletions*) y las recomendaciones y guías del ACMG-ClinGen (Riggs et al., 2020) en el caso de las CNVs.

Los hallazgos detectados a través de la secuenciación exómica fueron validados. La variante de secuencia, que consistía en una deleción de 10 pb, se confirmó por secuenciación por Sanger siguiendo el protocolo de Soliman et al. (2012). Los cebadores se diseñaron utilizando Primer-BLAST (Ye et al., 2012). La secuencia de los cebadores utilizados se detalla en la Tabla 1. Las amplificaciones de ADN se realizaron en reacciones de 50 µl, utilizando la ADN polimerasa PFU (Inbio Highway, Argentina). Los productos de PCR se purificaron en un gel de agarosa utilizando el kit de recuperación de ADN PuriPrep-GP Kit (Inbio Highway) y fueron secuenciados. La deleción, que involucraba aparentemente a todo el gen, fue confirmada mediante un experimento diseñado específicamente por PCR en tiempo real cuantitativa (qPCR) para determinar la dosis alélica del gen *NPHP1*. Esto se realizó bajo la inspiración del protocolo empleado por Chen et al. (2020) con un cambio en el diseño de cebadores. Los oligonucleótidos se encuentran descritos en la Tabla 2. Las amplificaciones se realizaron utilizando el kit GoTaq qPCR Master Mix (Promega, WI, EEUU). Las condiciones de ciclado térmico estuvieron compuestas por: 2 min a 50 °C, seguido de un paso inicial de desnaturalización durante 10 min a 95 °C, 40 ciclos de 15 s a 95 °C y 1 min a 60 °C. Los experimentos se llevaron a cabo por duplicado. La cuantificación

**Tabla 1.** Secuencia de los cebadores para confirmar la pequeña deleción de 10 pb del gen *NPHP1*.

Cebador	Secuencia 5'-3'
Forward	AATGGCACCCCTCCATCCTAC
Reverse	TGAAAAGGCAAAAGCGACTCTGT

**Tabla 2.** Secuencia de los cebadores para confirmar la deleción del gen *NPHP1* completo.

Cebador	Secuencia 5'-3'
Forward (deleción)	CCAGAAGGTGACGCCATCG
Reverse (para ambos)	AGTGACAGTATGGAACAGAACCA

relativa en la expresión génica se determinó utilizando el método  $2^{\Delta\Delta Ct}$  (Livak y Schmittgen, 2001). Utilizando este método, se obtuvieron los cambios en la expresión génica normalizados a un gen de control interno, *GAPDH*.

## RESULTADOS

### Diagnóstico Genético

En primer lugar, el análisis de los datos de secuenciación del exoma completo del caso permitió identificar a la variante NM\_001128178.3:c.1897\_1906del - p.(Thr633LeufsTer37) en el gen *NPHP1* en aparente homocigosis. Se trata de una delección de 10 pb que se predice que causa un corrimiento del marco de lectura con la posterior aparición de un codón *stop* prematuro. La variante se clasificó en primera instancia (agosto de 2022) como de significado incierto (VUS) aplicando los siguientes criterios según las guías mencionadas previamente (Richards et al., 2015):

- Variante que resulta en la pérdida de menos del 10% de la proteína, se predice que escapa al mecanismo NMD (*Nonsense Mediated Decay*) y la pérdida de función proteica constituye un mecanismo conocido asociado al desarrollo de patogenicidad en este gen (criterio PVS1\_Moderate).

- Variante que posee baja frecuencia poblacional en la base de datos de gnomAD 4.1 (sin reporte de homocigotas, criterio PM2\_Supporting).

Además, al no encontrarse descrita en la literatura, fue considerada una variante novel. Sin embargo, el 15 de julio del 2023 un laboratorio reportó dicha variante como probablemente patogénica en la base de datos clínica ClinVar, aunque sin ningún tipo de descripción adicional.

Dado que no se presentaba consanguinidad en la

familia y se trataba de una enfermedad poco frecuente, la probabilidad de que el paciente hubiera heredado la misma mutación de ambos padres era baja. Además, la técnica de secuenciación exómica utilizada en este caso no permite detectar con precisión delecciones de gran tamaño. Por ello, se decidió ampliar la investigación mediante una metodología más adecuada para confirmar la presencia de la variante en homocigosis. Asimismo, en la literatura existen reportes de CNVs en este gen, lo que reforzó la importancia de profundizar en la evaluación del caso. De esta manera, el análisis bioinformático de CNVs a partir de los datos del exoma completo, permitió detectar una delección en el otro alelo, que involucraba al gen completo de 81.217 pb aproximadamente (Figura 3). Para esta delección, de acuerdo a las normas de HGVS e ISCN, se utiliza la siguiente nomenclatura:

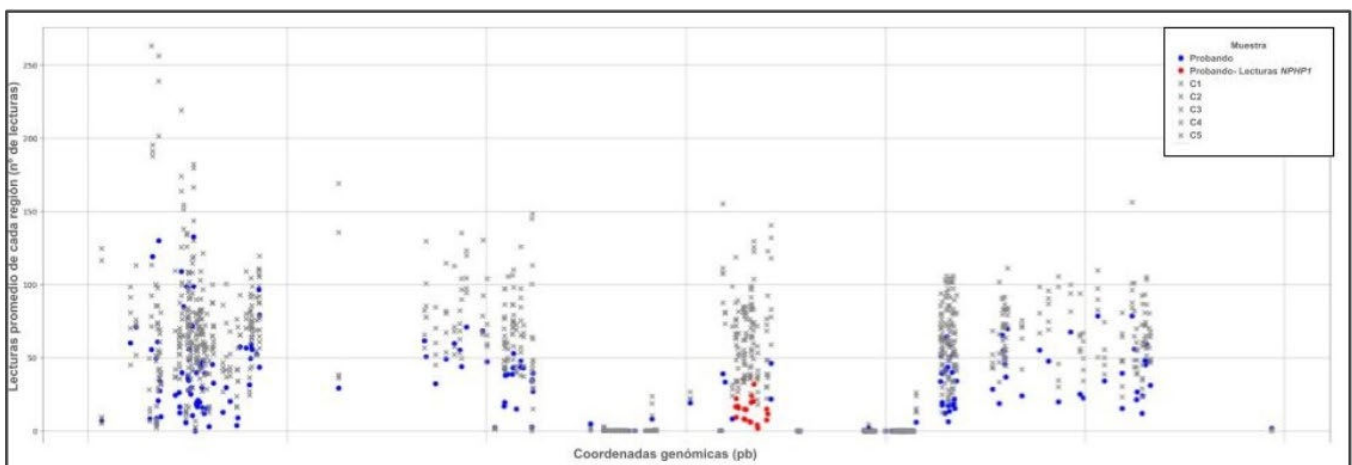
seq[GRCh38] del(2)(q13q13) NC\_000002.12:g.(?\_110.123.799)\_(110.205.016\_?)del.

Dicha delección se identificó en heterocigosis en el brazo largo del cromosoma 2. La región genómica involucrada en este rearrreglo se inicia en la posición 110.123.799 y tiene un extremo final en la posición 110.205.016 aproximadamente, resultando en una monosomía parcial del cromosoma 2 de alrededor de 0,08 Mb (los puntos de ruptura son aproximados debido a las limitaciones de la metodología de análisis).

La variante se clasificó como patogénica, aplicando los siguientes criterios, basados en las guías mencionadas previamente (Riggs et al., 2020):

- La delección hallada incluye genes codificantes de proteínas u otros elementos funcionalmente importantes conocidos (criterios 1A; 3A).

- Se trata de una variante que solapa completamente con una región genómica recurrente establecida como haploinsuficiente (criterio 2A).



**Figura 3.** Gráfico de puntos que representa la profundidad promedio de lectura del gen *NPHP1* y sus genes vecinos. Las lecturas del probando se muestran como puntos azules, mientras que las de los controles (individuos sanos) se representan con cruces grises. Se observa una disminución notable en la profundidad de lecturas en la región correspondiente al gen *NPHP1* en la muestra del probando (indicada con puntos rojos), en comparación con los controles (C1 a C5). Cada punto refleja el número de lecturas por región dentro del kit de captura.

- No se dispone de información sobre la herencia o ésta es poco informativa. El fenotipo del paciente no es específico, pero es consistente con lo que se ha descrito en casos similares (criterio 5G).

Cabe destacar que se estudiaron otras variantes tanto de secuencia como en el número de copias en genes asociados al diagnóstico presuntivo, las cuales resultaron no poseer significancia clínica para el caso, descartando otras posibles causas genéticas.

Finalmente, los hallazgos del análisis del exoma completo sugirieron que el diagnóstico etiológico para este cuadro clínico era nefronoptosis juvenil asociada a *NPHP1*, de herencia autosómica recesiva.

### Confirmación de las variantes por métodos alternativos

#### Confirmación de la SNV

En virtud de los hallazgos obtenidos a partir del experimento de secuenciación masiva, se procedió a realizar la confirmación de ambas variantes por métodos alternativos. Como se muestra en la Figura 4, la secuenciación por Sanger confirmó la presencia de una delección de 10 pb en el gen *NPHP1*. Sin embargo, a pesar de tratarse de una delección que debería alterar el marco de lectura, no se observó un corrimiento en el mismo, sugiriendo un alelo en homocigosis.

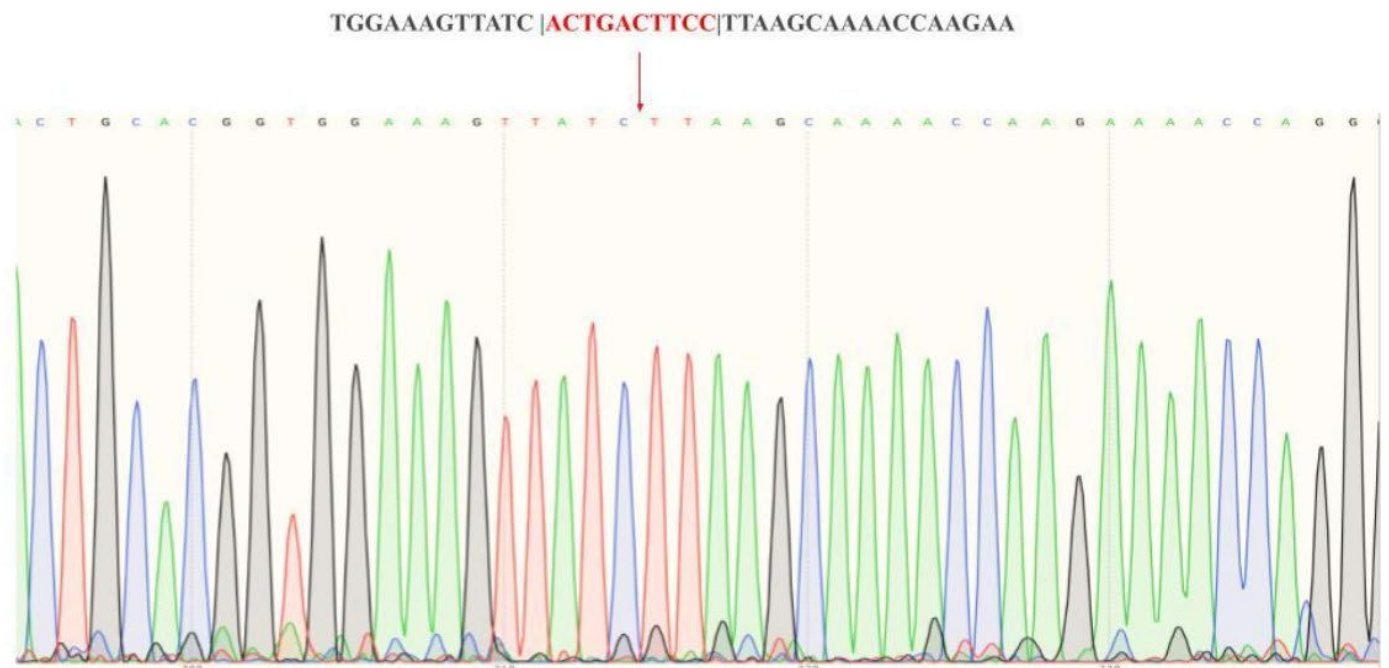
### Confirmación de la CNV

El experimento de qPCR, diseñado para detectar la delección que involucraba al gen completo, permitió confirmar que efectivamente el gen *NPHP1* en el paciente presentaba menos dosis alélica comparada con la muestra control (Figura 5). Cabe destacar que esta técnica no permite definir exactamente los puntos de ruptura de esta variante, pero sugirió que probablemente se extienda más allá de los extremos del gen.

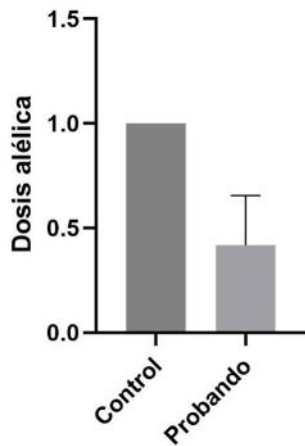
Finalmente, mediante ambos experimentos (secuenciación por Sanger para la pequeña delección y qPCR para la delección del alelo completo) se evidenció que ambas variantes estaban presentes en el paciente estudiado, en la configuración alélica exhibida en la Figura 6.

### Segregación de variantes

Para evaluar la segregación de las variantes en la familia, se estudiaron a la madre y a las dos mujeres menores de la hermandad. Los resultados del experimento de qPCR mostraron que la delección del gen completo estaba presente únicamente en el probando y no se detectó en ninguna de sus familiares sanas evaluadas, ya que presentaron dosis alélica similar al control (Figura 7A). Es importante mencionar, que no fue posible estudiar al padre del paciente (por haber fallecido en 2020, sin referencia de patología relacionada a la del probando) ni al resto de sus hermanos.



**Figura 4.** Electroferograma de la secuenciación por Sanger del probando correspondiente a la región del exón 20 donde se detectó la pequeña delección por NGS. Se observa una delección homocigota de 10 pares de bases, sin evidencia de corrimiento en el marco de lectura. La flecha señala la ubicación precisa de la delección: NC\_000002.12:g.110123920\_110123929del (NM\_001128178.3:c.1897\_1906del).



**Figura 5.** Cuantificación alélica mediante qPCR. Se observa una disminución en la dosis alélica del probando en comparación con el control (individuo sano). El gen *GAPDH* se utilizó como control endógeno (*housekeeping*). El ensayo se realizó por duplicado.

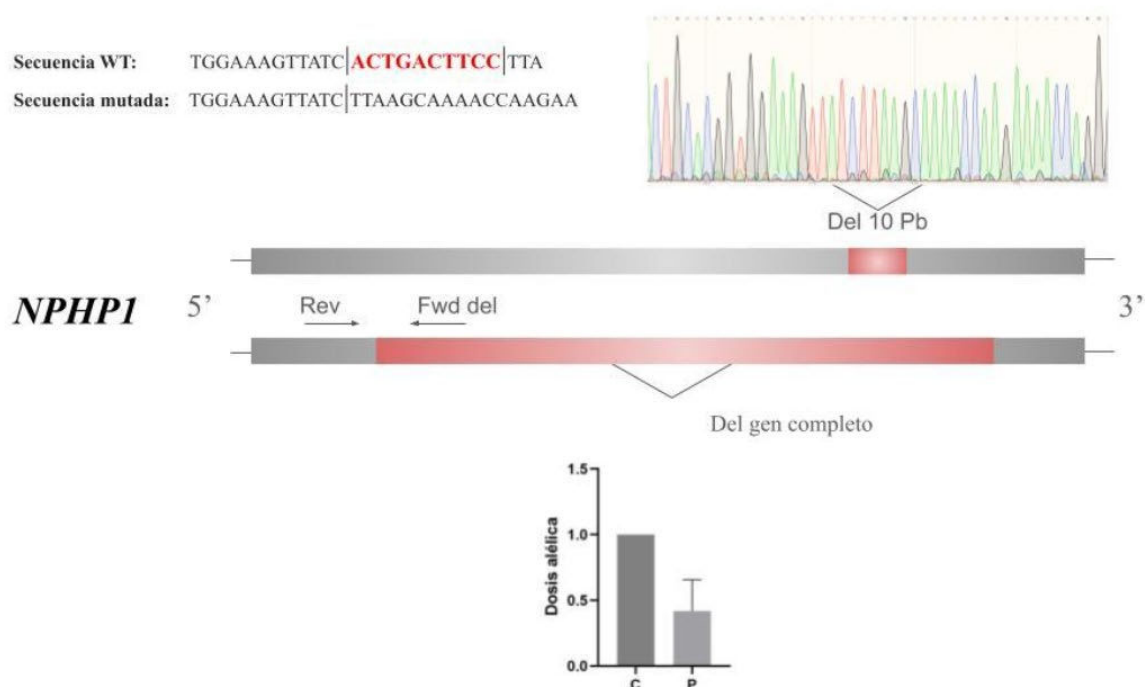
En cuanto a la delección de 10 pb, se confirmó por secuenciación de Sanger que tanto la madre como una de las hermanas del probando eran portadoras sanas (Figura 7B), lo que es consistente con un patrón de herencia autosómica recesiva.

#### Reclasificación de las variantes

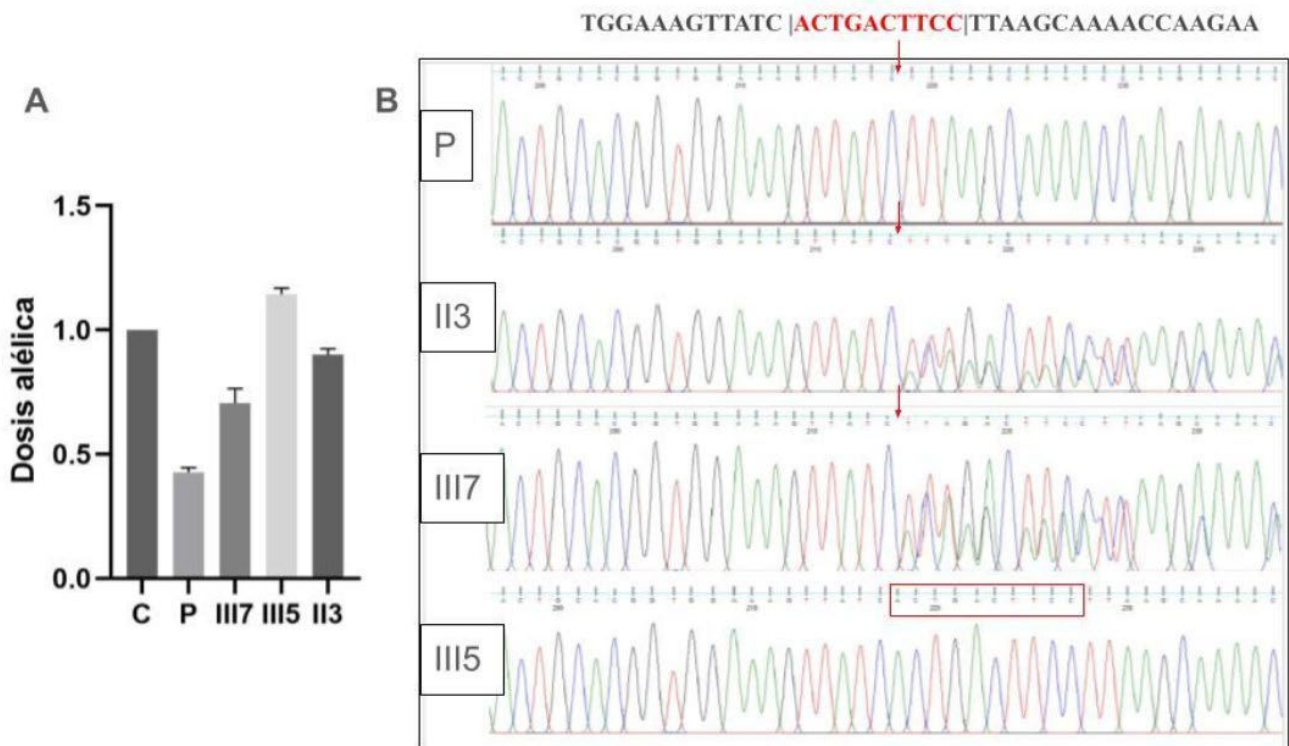
Luego del estudio de los familiares disponibles, se procedió a reclasificar las variantes detectadas en el paciente. En relación a la delección g.(?<sub>110.123.799</sub>)\_

(110.205.016\_?)del, la herencia resultó no informativa. Si bien la clasificación inicial (agosto de 2022) de la variante fue patogénica, no se adicionaron criterios extra.

En cuanto a la variante c.1897\_1906del, inicialmente clasificada como de significado incierto en agosto de 2022, dos criterios fueron reevaluados. Por un lado, se analizó la segregación familiar para determinar si se podría aplicar el criterio PP1 (proveniente de la guía de ACMG/AMP para la clasificación de variantes: *cosegregación con enfermedad en múltiples miembros de la familia afectados en un gen que se sabe definitivamente causa la enfermedad*). A partir de las especificaciones por expertos para sordera, como modelo de aplicación de los criterios ACMG/AMP para enfermedades autosómicas recesivas, la variante alcanzó un puntaje de 0,25 (Oza et al., 2018). Con ello, la variante no consiguió el valor del nivel inferior para la aplicación del criterio PP1, por lo tanto, no se aplicó. Por otro lado, la variante se encontró en un paciente acompañado de una variante patogénica (CNV descrita en este estudio), situación aplicable al criterio PM3 (criterio proveniente de la guía ACMG/AMP: *para trastornos recesivos, detectados en trans con una variante patogénica*). La variante fue identificada en *trans*, confirmada mediante los experimentos de qPCR y secuenciación de Sanger, análisis que corroboraron la presencia de dos alelos distintos. Por lo tanto, de acuerdo con las especificaciones del SVI Clingen para PM3, la variante alcanzó un valor de 1 punto y se aplicó el criterio PM3 con la fuerza moderada por defecto. Con ese puntaje, la variante mantuvo su clasificación de VUS. Asimismo, se analizó la alta probabilidad *a posteriori* (PostP) de



**Figura 6.** Visualización del diseño del experimento. Se observa el esquema de la configuración alélica de las dos delecciones detectadas en base a ambos experimentos, Sanger y qPCR.



**Figura 7.** A- Cuantificación alélica obtenida a partir de qPCR. El ensayo fue realizado por duplicado. C: Control, P: Probando, III5: Hermana 1, III7: Hermana 2, II3: Madre. B- Electroferogramas de la secuenciación por Sanger de la delección pequeña del gen *NPHP1*. P: Probando, III5: Hermana 1, III7: Hermana 2, II3: Madre.

que la variante fuera la causante de la enfermedad, ya que se evaluaron otras causas genéticas de la patología (estudio de Panel de Genes asociados a nefronoptosis) y éstas fueron descartadas. Con lo cual, en una discusión multidisciplinaria con los médicos tratantes, se convino que, tanto por la evolución del paciente como por el fenotipo específico manifestado, la nefronoptosis por *NPHP1* resultó ser la causa más plausible. Asimismo, la evidencia indirecta (no presentar variantes patogénicas o probablemente patogénicas en otro *loci*) apoyó la asignación de patogenicidad de las variantes en un locus específico. Por lo tanto, de forma conservadora se aplicó el criterio PP4 (criterio de la guía ACMG/AMP: *el fenotipo del paciente o los antecedentes familiares son altamente específicos de una enfermedad con una única etiología genética*) en su fuerza por defecto de “Supporting” (Biesecker, 2024).

Finalmente, la delección de 10 pb en el gen *NPHP1* se reclasificó sumando los siguientes criterios: PVS1\_Moderate, PM2\_Supporting, PM3, PP4; alcanzando un valor de acuerdo al modelo de Tavgigian et al. (2020) de 6 puntos, clasificación de probablemente patogénica (noviembre de 2024).

#### Tratamiento, evolución y seguimiento

Desde el punto de vista clínico, el paciente recibió un trasplante renal en marzo de 2023 y ha evolucionado

favorablemente con buena adherencia a controles y tratamiento, manteniendo en la actualidad su función renal conservada. Se encuentra recibiendo la inmunosupresión indicada por el trasplante (tacrolimus, micofenolato sódico y meprednisona, esta última a dosis baja). No ha presentado episodios de rechazo.

En los años post trasplante no ha sufrido episodios de infecciones urinarias, uno de los principales indicadores de patología urológica. Tampoco se ha evidenciado proteinuria en los análisis de orina, manifestación que puede asociarse a recurrencia de glomerulopatía. Estos datos refuerzan el diagnóstico de nefronoptosis como causa de la enfermedad renal que lo llevó a cronicidad y terminalidad.

Luego del trasplante y a raíz de los resultados obtenidos del estudio genético, el paciente fue valorado por oftalmología, con resultados de fondo de ojos normal y retina sin particularidades, sin presencia de signos sugestivos de retinosis pigmentaria hasta la fecha. Queda aún pendiente el electroretinograma.

## DISCUSIÓN

Dentro de las patologías renales de origen genético, la nefronoptosis es una de las causas más frecuentes de insuficiencia renal (Arango, 2023). Sin lugar a dudas, obtener un diagnóstico preciso permite un seguimiento

y asesoramiento oportuno del paciente. La importancia de estudiar genéticamente a estos pacientes es crucial para practicar una verdadera medicina personalizada.

Dentro de los genes asociados a esta enfermedad, *NPHP1* resulta un gen desafiante a la hora de ser estudiado, no sólo por su longitud sino porque en sus extremos contiene regiones repetitivas que impiden un correcto mapeo/alineamiento con el genoma de referencia.

En la bibliografía, se ha señalado que los diagnósticos clínicos de pacientes con deleciones en *NPHP1* presentan un riesgo significativo de subdiagnóstico de la enfermedad asociada en la práctica clínica (Snoek et al., 2018).

Por otro lado, es importante destacar el valioso significado de seguir profundizando en variantes que despiertan interés. En este caso particular, se analizó a un paciente con una variante en aparente homocigosis detectada por secuenciación masiva. La evidencia indica que cuando se detectan variantes en homocigosis sin antecedentes de consanguinidad, es altamente probable estar ante la presencia de una deleción solapante del otro alelo. Esto derivó en el estudio de deleciones en el gen completo, descritas en la literatura para *NPHP1*, con lo cual se descartó la primera hipótesis, que consistía en que la variante estuviera en homocigosis y llevó a proponer un modelo de heterocigosis compuesta de una deleción de 10 pb y una de aproximadamente 0,08 Mb en el otro alelo.

Es importante estudiar la presencia de CNVs al identificar variantes raras en homocigosis cuando no se refiere consanguinidad o pertenencia a una comunidad cerrada. Los algoritmos bioinformáticos, como los mencionados en materiales y métodos, para la detección de CNVs pudieron certificar que la nueva hipótesis planteada era correcta. Sin embargo, estos no dejan de ser un cribado que debe ser confirmado por una técnica *Gold Standard*. Lo recomendado para estos casos es realizar un estudio de MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) o Array CGH (*Comparative Genomic Hybridization*). Debido a la falta de cobertura por la obra social del paciente y al alto costo de este tipo de estudios, se optó por un método alternativo para poder confirmar la aparente deleción del gen completo que los algoritmos informáticos detectaron en una primera instancia. Es así que, bajo la inspiración del gran trabajo de Chen *et al.* (2020), se logró verificar a través de una qPCR que efectivamente uno de los dos alelos estaba completamente delecionado. Es importante señalar que, para una caracterización completa del paciente, sería ideal complementar este análisis con técnicas validadas para establecer genotipos complejos como el presente caso.

Se estudiaron también a los familiares del probando para poder evaluar la segregación de ambas variantes en la familia. Esto resultó de vital importancia, ya

que permitió reclasificar a las variantes y sumar más evidencia que apoyara un diagnóstico genético. De todas maneras, el estudio funcional de la deleción de 10 pb, sería de utilidad para poder sumar aún más evidencia. Asimismo, en este trabajo se ha demostrado la manera de utilizar las herramientas bioinformáticas en combinación con técnicas moleculares para arribar a un diagnóstico confiable.

Por otro lado, se ha realizado una implementación rigurosa de las guías de ACMG/AMP, las revisiones por ClinGen y paneles de expertos para la clasificación de las variantes detectadas. Estas herramientas de interpretación del diagnóstico son indispensables para el abordaje posterior del tratamiento y seguimiento del paciente.

Finalmente, y a modo de conclusión, en pacientes con fenotipos asociados a tan amplia heterogeneidad genética y fenotípica, la identificación de la etiología genética del cuadro permite establecer un pronóstico, adecuar el seguimiento y el eventual tratamiento específico. La comunicación fluida y el intercambio entre los médicos tratantes y el equipo de diagnóstico es fundamental para alcanzar mejores resultados para los pacientes y sus familias.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adamiok-Ostrowska, A., and A. Piekiełko-Witkowska. (2020) "Ciliary Genes in Renal Cystic Diseases." *Cells* 9(4): 907. <https://doi.org/10.3390/cells9040907>.
- Arango Sancho, P., and A. Madrid Aris. (2023) "Nefronoptosis." In *Nefrología al Día*, edited by V. Lorenzo and J. M. López Gómez. Available from: <https://www.nefrologiaaldia.org/256>.
- Biesecker, Leslie G., et al. (2019) "ClinGen Guidance for Use of the PP1/BS4 Co-Segregation and PP4 Phenotype Specificity Criteria for Sequence Variant Pathogenicity Classification." *Am. J. Hum. Genet.* 111(1): 24-38.
- Caridi, G., et al. (2006) "Stop Codon at Arginine 586 Is the Prevalent Nephronophthisis Type 1 Mutation in Italy." *Nephrol. Dial. Transplant.* 21(8): 2301-2303. doi: 10.1093/ndt/gfl277.
- Chen, F., L. Dai, J. Zhang, et al. (2020) "A Case Report of NPHP1 Deletion in Chinese Twins with Nephronophthisis." *BMC Med. Genet.* 21: 84. <https://doi.org/10.1186/s12881-020-01025-x>.
- Clinical Genome Resource. "Sequence Variant Interpretation." *Clinical Genome*. Accessed May 21, 2025. <https://clinicalgenome.org/working-groups/sequence-variant-interpretation/>.
- Fliegau, M., et al. (2006) "Nephrocystin Specifically Localizes to the Transition Zone of Renal and Respiratory Cilia and Photoreceptor Connecting Cilia." *J. Am. Soc. Nephrol.* 17(9): 2424-2433. doi: 10.1681/ASN.2005121351.
- Gupta, S., J. E. Ozimek-Kulik, and J. K. Phillips. (2021) "Nephronophthisis-Pathobiology and Molecular Pathogenesis of a Rare Kidney Genetic Disease." *Genes (Basel)* 12(11): 1762. doi: 10.3390/genes12111762.
- Halbritter, J., et al. (2013) "Identification of 99 Novel Mutations in a Worldwide Cohort of 1,056 Patients with a Nephronophthisis-Related Ciliopathy." *Hum. Genet.* 132(8): 865-884. doi: 10.1007/s00439-013-1297-0.

- König, J., B. Kranz, S. König, K. P. Schlingmann, A. Titieni, B. Tönshoff, S. Habbig, L. Pape, K. Häffner, M. Hansen, A. Büscher, M. Bald, H. Billing, R. Schild, U. Walden, T. Hampel, H. Staude, M. Riedl, N. Gretz, M. Lablans, C. Bergmann, F. Hildebrandt, H. Omran, and M. Konrad; Gesellschaft für Pädiatrische Nephrologie (GPN). (2017) "Phenotypic Spectrum of Children with Nephronophthisis and Related Ciliopathies." *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 12(12): 1974-1983. doi: 10.2215/CJN.01280217.
- Leggatt, G., et al. (2023) "A Genotype-to-Phenotype Approach Suggests Under-Reporting of Single Nucleotide Variants in Nephrocystin-1 (NPHP1) Related Disease (UK 100,000 Genomes Project)." *Sci. Rep.* 13(1): 9369. doi: 10.1038/s41598-023-32169-4.
- Lindström, N. O., et al. (2018) "Conserved and Divergent Features of Human and Mouse Kidney Organogenesis." *J. Am. Soc. Nephrol.* 29(3): 785-805. doi: 10.1681/ASN.2017080887.
- Livak, K. J., and T. D. Schmittgen. (2001) "Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta C_t$  Method." *Methods* 25: 402-408.
- Luo, F., and Y. H. Tao. (2018) "Nephronophthisis: A Review of Genotype-Phenotype Correlation." *Nephrology (Carlton, Vic.)* 23(10): 904-911. doi: 10.1111/nep.13393.
- Oza, A. M., M. T. DiStefano, S. E. Hemphill, B. J. Cushman, A. R. Grant, R. K. Siegert, J. Shen, A. Chapin, N. J. Boczek, L. A. Schimmenti, J. B. Murry, L. Hasadsri, K. Nara, M. Kenna, K. T. Booth, H. Azaiez, A. Griffith, K. B. Avraham, H. Kremer, H. L. Rehm, and A. N. Abou Tayoun. (2018) "Expert Specification of the ACMG/AMP Variant Interpretation Guidelines for Genetic Hearing Loss." *Hum. Mutat.* 39(11): 1593-1613. doi: 10.1002/humu.23630.
- Otto, E. A., et al. (2008) "Mutation Analysis in Nephronophthisis Using a Combined Approach of Homozygosity Mapping, CEL I Endonuclease Cleavage, and Direct Sequencing." *Hum. Mutat.* 29(3): 418-426. doi: 10.1002/humu.20669.
- Pitón, M., L. Gregorini, C. Bullor, A. Ejdin, D. López Vieyto, D. Lis, E. Sarmiento, and J. J. Piantanida. (2022) "Nefronoptisis: Reporte de un Caso Pediátrico." *Arch. Argent. Pediatr.* 120(3): e142-e146. doi: 10.5546/aap.2022.e142.
- Richards, S., et al. (2015) "Standards and Guidelines for the Interpretation of Sequence Variants: A Joint Consensus Recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology." *Genet. Med.* 17(5): 405-424. doi: 10.1038/gim.2015.30.
- Riggs, E. R., et al. (2020) "Technical Standards for the Interpretation and Reporting of Constitutional Copy-Number Variants: A Joint Consensus Recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen)." *Genet. Med.* 22(2): 245-257. <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0686-8>.
- Simms, R. J., A. M. Hynes, L. Eley, and J. A. Sayer. (2011) "Nephronophthisis: A Genetically Diverse Ciliopathy." *Int. J. Nephrol.* 2011: 527137. <https://doi.org/10.4061/2011/527137>.
- Snoek, R., J. van Setten, B. J. Keating, A. K. Israni, P. A. Jacobson, W. S. Oetting, A. J. Matas, R. B. Mannon, Z. Zhang, W. Zhang, K. Hao, B. Murphy, R. Reindl-Schwaighofer, A. Heinzl, R. Oberbauer, O. Viklicky, P. J. Conlon, C. P. Stapleton, S. J. Bakker, H. Snieder, E. D. J. Peters, B. van der Zwaag, N. V. A. M. Knoers, M. H. de Borst, and A. M. van Eerde. (2018) "NPHP1 (Nephrocystin-1) Gene Deletions Cause Adult-Onset ESRD." *J. Am. Soc. Nephrol.* 29(6): 1772-1779. doi: 10.1681/ASN.201711200.
- Soliman, N. A., et al. (2012) "Clinical Characterization and NPHP1 Mutations in Nephronophthisis and Associated Ciliopathies: A Single Center Experience." *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.* 23(5): 1090-1098. <https://doi.org/10.4103/1319-2442.100968>.
- Stokman, M., M. Lilien, and N. Knoers. (2016) "Nephronophthisis-Related Ciliopathies." Updated 2023 Mar 2. In Adam, M. P., J. Feldman, G. M. Mirzaa, et al., eds. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK368475/>.
- Tavtigian, S. V., S. M. Harrison, K. M. Boucher, and L. G. Biesecker. (2020) "Fitting a Naturally Scaled Point System to the ACMG/AMP Variant Classification Guidelines." *Hum. Mutat.* 41(10): 1734-1737. doi: 10.1002/humu.24088. Epub 2020 Aug 30.
- Wolf, M. T. (2015) "Nephronophthisis and Related Syndromes." *Curr. Opin. Pediatr.* 27(2): 201-211. doi: 10.1097/MOP.000000000000194.
- Ye, J., G. Coulouris, I. Zaretskaya, I. Cutcutache, S. Rozen, and T. L. Madden. (2012) "Primer-BLAST: A Tool to Design Target-Specific Primers for Polymerase Chain Reaction." *BMC Bioinformatics* 13: 134. doi: 10.1186/1471-2105-13-134.

## FUENTES DE FINANCIACIÓN

Este trabajo fue realizado gracias a las siguientes fuentes de financiación: Genómica Clínica de Enfermedades Poco Frecuentes (GeC-EpoF), Proyectos de Redes Federales de Alto Impacto, CONVE 2023-100390147-APN-MCT.

## APROBACIÓN ÉTICA Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

Se trabajó bajo el proyecto RED de Genómica Clínica de Enfermedades Poco Frecuentes (GeC-EPOF), y en este marco se encuentra la aprobación ética correspondiente. El tutor legal del paciente ha otorgado su consentimiento para la publicación de la información.

## CONTRIBUCIONES DE AUTORES

Lugones A.C., y Martí M.A., contribuyeron a la concepción y diseño del estudio. Lugones A.C. y Aguirre N.M. redactaron el manuscrito. Iglesias García L., Erra L., Martínez Mayer J., Waldman M., Pérez Millán M.I. y Recabarren A. realizaron experimentos. Guillamondegui M.J, Fernandez Robetto A., Tardivo A. y Julián P. realizaron el trabajo clínico, recopilaron datos y participaron en el cuidado del paciente. Todos los autores han revisado el manuscrito en busca de contenido intelectual importante y han aprobado la versión final.