

## MUTACIÓN G47R EN EL GEN SBSN CAUSA SÍNDROME DE BARTTER CON SORDERA EN DOS HERMANAS VENEZOLANAS

Narkis Revilla\*, Nereida Maldonado\*\*, Víctor García-Nieto\*\*\*, Félix Claverié-Martín\*\*\*\*

### RESUMEN

El Síndrome de Bartter (SB) es un grupo heterogéneo de tubulopatías autosómicas recesivas, perdedoras de sal e hipokalémicas. Se han identificado cinco tipos de SB causados por diferentes defectos genéticos, uno de ellos está asociado con sordera neurosensorial (SBSN). Recientemente se han descrito mutaciones en el gen SBND, mapeado en el cromosoma 1p31, asociadas con BSNS. El gen Barttin, codifica para una subunidad B esencial, subunidad de los canales CIC-ka y CIC-kb. Ambas subunidades están co- expresadas en la membrana basolateral de los túbulos renales, en las ramas delgada y gruesa del asa de Henle, y en la vascularización del oído interno. En el presente trabajo se describen los casos clínicos de dos hermanas venezolanas hijas de padres consanguíneos (primo-hermanos) de Jadacaquiva en la Península de Paraguaná, estado Falcón. La secuencia de análisis del gen SBSN mostró que las niñas afectadas eran homocigotas para una transición C-T en axón I. Esta alteración resulta en una mutación ausente, G47R, la cual suprime el efecto estimulante sobre el barttin de la subunidad del canal CIC-KB. Estas niñas con la mutación G47R presentaron polihidramnios, parto prematuro y pérdida de sal. Sin embargo, la tasa de filtración glomerular de las pacientes es normal. Las manifestaciones clínicas son más moderadas en pacientes con mutación G47R, en relación a otros pacientes publicados con SBSN. Éste es el primer reporte de casos con SBSN en Venezuela.

**Palabras clave:** Síndrome de Bartter. SBSN: Síndrome de Bartter con sordera neurosensorial.

### SUMMARY

Bartter syndrome (BS) is a heterogeneous group of autosomal recessive hypokalemic salt-losing tubulopathies. Five types of BS caused by different genetic defects have been identified, and one of them is associated with sensorineural deafness (BSND). Mutations in the recently described BSND gene, mapped in chromosome 1p31, have been reported to be associated with BSNS. This gene encodes barttin, an essential B-subunit CIC-ka and CIC-kb channels. Both subunits are co-expressed in basolateral membranes of renal tubules in the thin and thick ascending limb of Henle's loop and in the stria vascularis of the inner ear. We studied two Venezuelan sisters, daughters of consanguineous parents from a small town called Jadacaquiva, in the peninsula of Paraguaná, Venezuela. Sequence analysis of the BSND gene showed that the affected members were homozygous for C to T transition in axon I. This alteration results in a missense mutation, G47R that has been previously shown to abolish the stimulatory effect on the subunit barttin of the CIC-Kb channel. The patients with the G47R mutation presented polyhydramnios, premature birth and salt loss. Nevertheless, glomerular filtration rate is normal. Clinical manifestations are moderate in patients with G47R mutation with regard to other patients reported with BSND. This is the first report of BSND in Venezuela.

**Key words:** Bartter's syndrome. SBSN: Bartter's Syndrome with sensorineural deafness.

### INTRODUCCIÓN

El Síndrome de Bartter (SB), es una alteración genética heterogénea autosómica recesiva, con pérdida de sal, que fue descrita por primera vez en 1962(1). El SB está caracterizado por hipokalemia, alcalosis metabólica, hipocloremia, hiperreninemia e hiperaldosteronismo con tensión arterial normal. La pérdida de sal renal en el SB resulta de una alteración en el transporte de NaCl a nivel de la rama ascendente gruesa del asa de Henle y otros segmentos del nefrón distal(2).

El SB ha sido clasificado en 5 tipos. Los tipos neonatales I y II son causados por mutaciones en el gen NkCC2

(SCL1241) (OMIM # 601678), y en el gen ROMK (OMIM # 241200), respectivamente(3,4). Estos dos tipos son las formas más severas, y están caracterizados por poli hidramnios, parto prematuro, pérdida de agua y sal en el período neonatal, alcalosis hipokalémica, insuficiente progreso en peso y talla, hipercalcemia y nefrocalcinosis temprana(5,6). El tipo III o SB clásico está asociado con mutaciones en el gen C1CN- K<sub>b</sub> código para el canal de Cl (CIC-kb), y ocurre en la infancia o en la niñez temprana(7). El SB clásico está caracterizado por pérdida de sal importante e hipokalemia, la cual ocasiona secundariamente poliuria, polidipsia, contracción de volumen, debilidad muscular y retardo en el crecimiento(8,9). Landau y cols, describieron en 1995 el tipo IV, el cual es una combinación del SB variante infantil y sordera neurosensorial (SBSN)(OMIM # 602522)(10). Un genoma ampliamente ligado al análisis del tipo reportado por Landau y cols, demostró al SBSN en el cromosoma 1p31(11). Birkenhager y cols, describieron en el 2001, siete diferentes mutaciones en un gen recientemente identificado, denominado SBSN, en 10 familias con SBSN(12). Ha sido descrito un tipo adicional de SB, en el cual el gen mutado es el CsSR, que codifica receptores sensibles al calcio(13,14). Esta rara enfermedad está caracterizada por hipocalcemia, déficit de

(\*) Nefrólogo Pediatra: Médico adjunto del Hospital Pediátrico del IVSS "Dr.Jesús García Coello". Punto Fijo, Edo. Falcón, Venezuela

(\*\*) Médico Genetista. Adjunto al Servicio de Gineco-Obstetricia, del Hospital del IVSS "Dr. R. Calles Sierra". Edo. Falcón, Venezuela

(\*\*\*) Médico Nefrólogo Infantil. Jefe de Servicio del Hospital Universitario "Nuestra Sra. de la Candelaria". Tenerife. España

(\*\*\*\*) Médico Genetista. Jefe de Servicio de Unidad de Genética "Nuestra Sra. de la Candelaria". Tenerife. España

Autor Corresponsal: Narkis Revilla.  
Hospital Pediátrico del IVSS "Dr.Jesús García Coello". Punto Fijo, Edo. Falcón,

secreción de hormona paratiroidea, hipokalemia, hipomagnesemia y nefrocalcinosis.

El gen SBSN, cuya mutación causa SB con sordera neurosensorial, codifica una proteína conocida como barttin, la cual contiene dos cadenas transmembrana alfa hélice, y ambas tienen terminales carboxy y grupo amino localizadas intracelularmente(12). Barttin se localiza con CIC-Ka y CIC-Kb en la membrana basolateral de la rama delgada y gruesa del asa de Henle del túbulo renal, y en las células marginales oscuras de las estrías vasculares en el oído interno(15). Barttin es la primera subunidad B reportada para un canal de cloro, y actúa como una subunidad esencial para CIC-Ka y CIC-Kb(12-15). Las funciones de Barttin como un activador de CIC-K es requerida para la adecuada reabsorción tubular de sodio. Recientemente, Schlingmann y cols, identificaron ambas deleciones homocigotas en el gen CICNKB y una mutación homocigota en el gen CICNKA en un paciente con pérdida de sal renal y sordera, quien no presentó mutación en el gen SBSN(16). Este hallazgo sugiere heterogeneidad genética en pacientes con SBSN. García Nieto y col, determinaron los 4 axones SBSN, tanto en individuos afectados y no afectados en dos familias españolas con 5 miembros con SBSN(17).

En este estudio se reportan dos hermanas, hijas de padres consanguíneos (primos) procedentes de Jadacaquiva, Península Paraguaná (Venezuela) con SBSN, y se describe el fenotipo de los dos miembros afectados. Éstos son los primeros SBSN reportados en Venezuela.

### PACIENTES

**Caso 1:** Paciente preescolar femenina de 2 años de edad, producto de II gestación simple a término (38 semanas) con poli hidramnios. Peso al nacer: 2500grs, talla al nacer: 49cms. Presentó infección urinaria a los 8 meses de nacida. Durante su hospitalización le detectan microlitiasis renal y le indican citrato de potasio. Refiere historia de vómitos frecuentes y poliuria. A los 3 años se detecta hipoacusia neuro-sensorial profunda mediante el estudio de potenciales evocados. El examen físico revela déficit pondero-estatural, con peso y talla por debajo del percentil 3 y cifras de TA normales (86/55 mmHg). Los resultados de los estudios de laboratorio se muestran en el Cuadro 1.

El ecosonograma renal reveló la presencia de nefrocalcinosis bilateral (Figura 1).

**Cuadro 1.** Estudios de laboratorio en las pacientes 1 y 2

	Caso 1	Caso 2
Ca/Cr (mg/mg) Valor ref: <0,14	1,5	0,44
Au/Cr (mg/mg) Valor ref: <0,50	1,6	1,36
P/Cr en (mg/mg) Valor ref:<0,80	2,4	0,84
Na/Cr (mEq/mg) Valor ref:<2,5	4,2	3,9
Calcio sérico (mg %) Valor ref:9-11 mg%	9,6	8,6
Fosforo sérico (mg %) Valor ref:3,5-5 mg%	7,8	6,77
pH sérico Valor de ref: 7,35-7,45	7,5	7,48
HCO3 (mEq/l) Valor de ref: 23-26 mEq/l	35,4	32
EB (mEq/l) Valor de ref: -1,5-2 mEq/l	12,3	8,6
pCO2 (mmHg) Valor de ref: 35-45 mmHg	46	40,2
Úrea (mg%) Valor ref: <40mg%	15	20
Creatinina (mg%) Valor ref(0,2-0,8)	0,3	0,31
Na sérico (mEq/l) Valor ref:135-148 mEq/l	134	138
K sérico (mEq/l) Valor ref:3,5-5,5 mEq/l	1,95	1,98
Cl sérico (mEq/l) Valor de ref:98-107 mEq/l	95	99
Mg sérico (mg%) Valor de ref:1,5-2,5 mg%	2,1	2,16
EF Ac úrico (mg %) Valor de ref: <13%	33,90%	15%
RTP (%) Valor de ref:85-95%	82,30%	86,40%
EF K (%) Valor de ref:<15%	95,23%	51,80%
EF Na (%) Valor de ref: <1%	1,30%	0,90%
EF Cl (%)Valor de ref: <1%	3,21%	2,40%
Aldosterona sérica (mg/ml) Valor de ref:5-30 mg/ml	105	135,8
Renina sérica (mg/ml) Valor de ref:1,40-4 mg/ml	4,1	3,1
Depuración de Cr(cc/min/1,73	95,5	88,33
Citrato en orina mg 24h (ref >250 mg en 24h)	411	646
Oxalato en orina ( mg/24h) Valor de ref: <50 mg/24 h)	96,8	81,3

**Tratamiento:** Recibe citrato de K al 10,8%(2 meq/kg/d), Cloruro de K al 20%(3mE/kg/d), Indometacina(2mg/kg/d) y Espironolactona(2mg/kg/d).

**Caso 2:** Paciente quien inicia control al año de ser vista su hermana. Es una preescolar femenina de 5 años de edad, quien consultó por talla baja, déficit pondero-estatural y poliuria. Antecedentes: Producto de II gestación, simple, pretérmino (32 semanas), cesárea por alto riesgo obstétrico, poli hidramnios y prematuridad. Peso al nacer: 1800 grs., Talla al

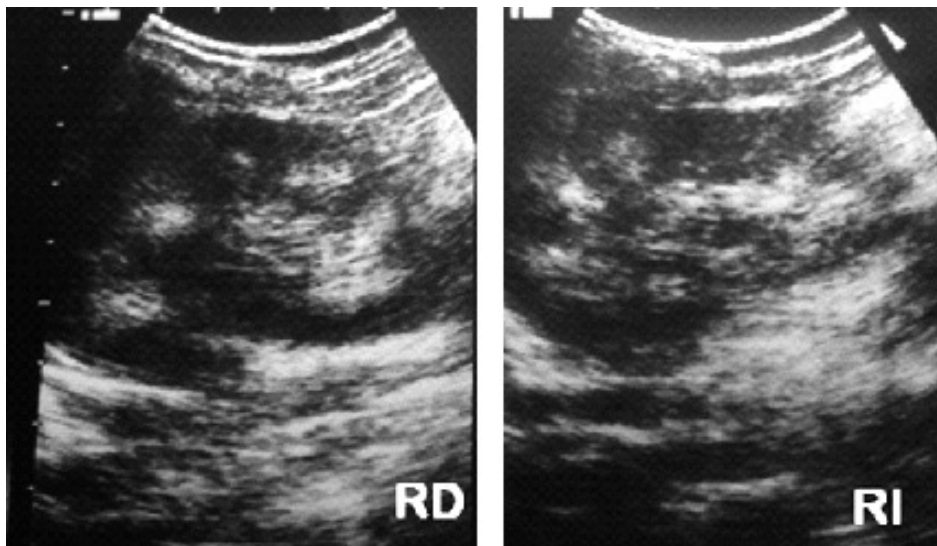


Figura 1. Ecosonograma renal con nefrocalcinosis bilateral (caso 1)

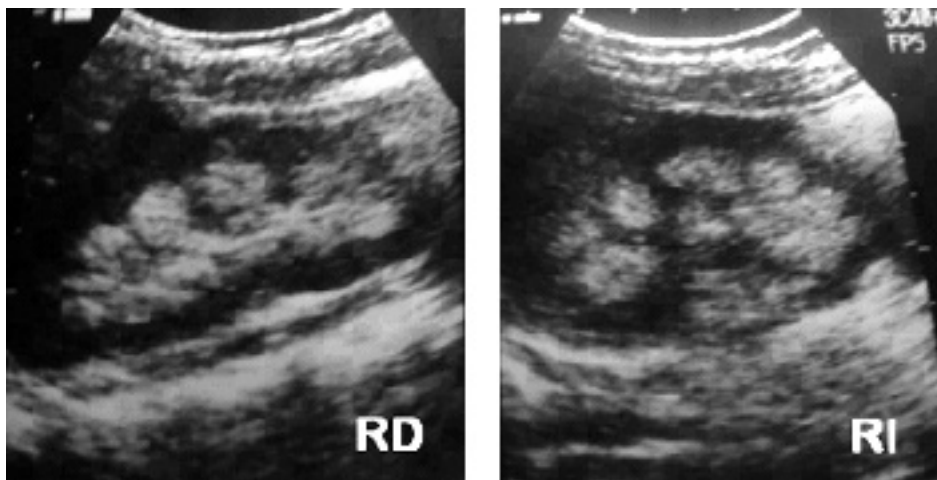


Figura 2. Ecosonograma renal con nefrocalcinosis bilateral (caso 2)

nacer: 44cms. Permaneció hospitalizada por 21 días en neonatología por dificultad respiratoria. Tiene como antecedente familiar una hermana con diagnóstico de SB. El examen físico revela un peso de 13,800 Kg (por debajo del percentil 3), y una talla de 95cms (por debajo del percentil 3). T.A:101/64 mmHg. El estudio de potenciales evocados auditivos reporta sordera neuro sensorial profunda. Los resultados de laboratorio se muestran en el Cuadro 1.

El ecosonograma renal reveló la presencia de nefrocalcinosis bilateral (Figura 2).

**Tratamiento:** Recibe Citrato de potasio al 10,8% (2mEq/kg/día), Cloruro de potasio al 20% (3mEq/kg/día), Indometacina (2mg/kg/día) y Espironolactona (2mg/kg/día).

#### Análisis de las secuencias de ADN del gen SBSN:

Las secuencias de ADN fueron obtenidas con el analizador genético ABI Prism 310. La amplificación del ADN por

PCR del axón 1 de las pacientes, se realizó por digestión con enzimas de restricción BclII (enzimas utilizadas para cortar zonas específicas del ADN). Los productos digeridos fueron separados por electroforesis 1,5% (w/v) agarosa. El ADN visualizado por coloración con bromuro de etilo. El estudio reveló una transición de C a T de 139 nucleótidos dentro de la región del código de axón 1 común en ambas niñas. Las pacientes fueron homocigotas con respecto a la mutación. Estos estudios fueron aprobados por el comité de ética del Hospital Universitario "Nuestra Señora de Candelaria" en Santa Cruz de Tenerife, España, previo consentimiento informado obtenido de la madre de las pacientes.

#### DISCUSIÓN

Las alteraciones de la función renal en estas pacientes son características de SB: hipokalemia con excreción fraccionada de potasio elevada, alcalosis metabólica, hipercalciuria e hiperuricosuria. Los niveles sanguíneos de aldosterona resultaron elevados en ambas pacientes, mientras que los niveles de renina plasmática estuvieron moderadamente elevados en la segunda paciente. Ambas niñas mejoraron clínicamente con el trata-

miento indicado, ya que desaparecieron los vómitos, recuperaron peso y talla, el potasio sérico mejoró aunque sin alcanzar niveles normales, mejoró la alcalosis metabólica, disminuyó la hipercalciuria y la nefrocalcinosis se mantuvo estable, al igual que la tasa de filtración glomerular.

Las pacientes reportadas en el presente estudio se diferencian clínicamente del reporte de Shalev y col, cuyos pacientes cursaron sin hipercalciuria o nefrocalcinosis(18). Los ocho pacientes con SBSN descritos por Jeck y col(19), originarios de Turquía y Libia demostraron presentación clínica homogénea e incluso parto prematuro, poli hidramnios, pérdida renal de sal severa, hipokalemia, retardo de crecimiento y desarrollo motor retardado, como los pacientes con SB antenatal(20). Todos estos pacientes tenían insuficiencia renal crónica para el final del primer año de vida, y dos de ellos alcanzaron insuficiencia renal terminal a las edades de 4 y 14 años. En ambos pacientes hay antecedentes de poli hi-

dramnios y peso bajo al nacer. La TFG fue normal, similar a los descritos en los pacientes de Shalev y cols(18), y en el trabajo de Nozu y col(21). También presentaron hipercalciuria y nefrocalcinosis por ecosonografía. El reporte de Jeck y cols, describe un grupo de niños con una variante neonatal de SBSN. Todos los niños en esta serie proceden de familias del sur de Israel y mostraron mutaciones en el gen Bartter. La mayoría de las características clínicas y genéticas en el reporte de Jeck son consistentes con nuestro reporte, con respecto a las características clínicas de este nuevo síndrome. La principal diferencia con el reporte de Jeck es que la mayoría de los niños reportados en su estudio mostraron un deterioro gradual e irreversible de la tasa de filtración glomerular. El deterioro de la función renal temprana no es un hallazgo uniforme entre niños con mutaciones del SBSN.

Es necesario tomar en cuenta que estas dos niñas con SNSN tipo 4, son hijas de padres consanguíneos (primos hermanos) quienes mostraron ser homocigotos. Estos casos ilustran la posibilidad de la ocurrencia de una doble mutación en los canales CLCNK-A y CLCNK-B.

Éstos son los primeros casos reportados de SBSN en Venezuela. Asociamos esta enfermedad en los dos casos de esta familia con una mutación puntual encontrada dentro del axón I del gen SBSN, que afecta la funcionalidad de CIC-Kcanal / barttin.

## REFERENCIAS

- Bartter FC, Promove P, Gill JR, MacCardle RC. Hyperplasia of juxtaglomerular complex with hyperaldosteronism and hypokalemic alkalosis. *Am J Med* 1962;33:811-828
- Simon DB, Lifton RP. The molecular basis of inherited hypokalemic alkalosis: Bartter's and Gitelman's syndromes. *Am J Physiol* 1996; 271:F961-966
- Simon DB, Karet FE, Hamdan JM, Dipietro A, Sanjad SA, Lifton RP. Bartter's syndrome, hypokalemic alkalosis with hypercalciuria, is caused by mutations in the Na-K-2Cl cotransporter NKCC2. *Nat Genet* 1996;13: 183-188
- Simon DB, Karet FE, Rodriguez-Soriano J, Hamdan JH, Dipietro A, Trachtman H, et al. Genetic heterogeneity of Bartter's syndrome revealed by mutations in the K<sup>+</sup> channel, Romk. *Nat Genet* 1996; 14: 152-156
- Seyberth HW, Rascher W, Schweer H, Kuhl PG, Mehls O, Schärer K. Congenital hypokalemia with hypercalciuria in preterm infants: a hyperprostaglandinuric tubular syndrome different from Bartter syndrome. *J Pediatr* 1985;107:694-701
- Zelikovic I. Hypokalaemic salt-losing tubulopathies: an evolving story. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:1696-1700
- Simon DB, Nayir A, Alpay H, Bakkaloglu A, Rodriguez-Soriano J, Morales JM, et al. Mutations in the chloride channel gene, CLCNKB, causes Bartter's syndrome type III. *Nat Genet* 1997;172:171-178
- Guay-Woodford. LM. Bartter syndrome: unraveling the pathophysiologic enigma. *Am J Med* 1998;105:151-161
- Rodriguez-Soriano J. Bartter and related syndromes: the puzzle is almost solved. *Pediatr Nephrol* 1998; 12:315-327
- Landau D, Shalev H, Ohaly M, Carmi R. Infantile variant of Bartter syndrome and sensorineural deafness: a new autosomal recessive disorder. *Am J Med Genet* 1995; 59:454-459
- Brennan TMH, Landau D, Shalev H, Lamb F, Schutte BC. Linkage of infantile Bartter syndrome with sensorineural deafness to chromosome 1p. *Am J Hum Genet* 1998;62:355-361
- Birkenhager R, Otto E, Schurmann MJ, Vollmer M, Ruf E-M, Maier-Lutz I, et al. Mutation of BSND causes Bartter syndrome with sensorineural deafness and kidney failure. *Nature Genetic* 2001; 29:310-314
- Vargas-Pousou R, Huang C, Hulin P, Houillier P, Jeunemaitre X, Paillard M, et al. Functional characterization of a calcium-sensing receptor mutation in severe autosomal dominant hypocalcemia with a Bartter-like syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:2259-2266
- Watanabe S, Fukumoto S, Chang H, Takeuchi Y, Hasegawa Y, Okazaki R, et al. Association between activating mutations of calcium-sensing receptor and Bartter's syndrome. *Lancet* 2002;360:692-694
- Estévez R, Boettger T, Stein V, Birkenhager R, Otto E, Hildebrandt F, et al. Barttin is a Cl<sup>-</sup> channel B-subunit crucial for renal Cl<sup>-</sup> reabsorption and inner ear K<sup>+</sup> secretion. *Nature* 2001; 414: 558-561
- Schlingmann KP, Konrad M, Jeck N, Waldegger P, Reinalter SC, Holder M, et al. Salt wasting and deafness resulting from mutations in two chloride channels. *N Engl J Med* 2004;350:1314-1349
- García Nieto V, Flores C, Luis Yanes MI, Gallego E, Villar J, Claverie-Martin F. Mutation G47R in the BSND gene causes Bartter syndrome with deafness in two Spanish families. *Pediatr Nephrol* 2006;21: 643-648.
- Shalev H, Ohali M, Kachko L, Landau D. The neonatal variant of Bartter syndrome and deafness: preservation of renal function. *Pediatrics* 2003;112:628-633
- Jeck N, Reinalter SC, Henne T, Marg W, Mallmann R, Pasel K et al. Hypokalemic salt-losing tubulopathy with chronic renal failure and sensorineural deafness. *Pediatrics* 2001;108:E5.
- Schlingmann KP, Konrad M, Jeck N, Waldegger P, Reinalter SC, Holder Met al. Salt wasting and deafness resulting from mutations in two chloride channels. *N Engl J Med* 2004;350:1314-1349
- Nozu K, Inagaki T, Fu X.J. Molecular analysis of digenic inheritance in Bartter Syndrome with sensorineural deafness. *J. Med. Genet* 2008; 45; 182-186.