



ORIGINALES

Enfermedad de Bartter neonatal diagnosticada mediante la detección de una mutación en el gen KCNJ1 que codifica la síntesis del canal renal de potasio ROMK1

V. García Nieto, D. Müller*, W. van der Vliet* y F. Claverie-Martín**

Unidades de Nefrología Pediátrica y de **Investigación. Hospital Ntra. Sra. de Candelaria. Santa Cruz de Tenerife. *Department of Cell Physiology. University of Nijmegen. Nijmegen. The Netherlands.

RESUMEN

Se comunican los datos clínicos de una paciente diagnosticada de síndrome de Bartter aunque, inicialmente se sospechó que estuviera afecta de hipercalciuria idiopática y, posteriormente, de síndrome de hiperprostaglandinismo E₂. Fue producto de un embarazo pretérmino en el que se constató polihidramnios. Durante los dos primeros años de vida, a pesar de evidenciarse retraso ponderal importante, poliuria y tendencia especial a la deshidratación, no tenía hipopotasemia. El equilibrio ácido-base durante ese tiempo fue normal, salvo acidosis metabólica en los primeros días de vida. Tras apreciarse hipercalciuria, fue tratada con tiazidas y dieta pobre en sal. Con este tratamiento se observó con frecuencia alcalosis hipopotasémica. Posteriormente, la posibilidad técnica de determinar los niveles de renina y de aldosterona y la eliminación urinaria de PGE₂ permitió sospechar el diagnóstico. El análisis de la secuencia del DNA mostró que la paciente es portadora de una mutación homocigota en el gen KCNJ1, que codifica la síntesis del canal renal de potasio ROMK1. Esta mutación cambia una C por una T en el nucleótido 1537 (CGA > TGA) que hace que el codón de arginina en la posición 338 se convierta en un codón de terminación (Arg338Stop) y da lugar a una proteína truncada. Esta mutación es la primera vez que se describe en España. La detección de esta mutación confirmó una enfermedad de diagnóstico confuso en los primeros años de vida.

Palabras clave: *Síndrome de Bartter. Gen KCNJ1. Mutación. Canal de potasio ROMK1.*

Recibido: 13-XII-2000.

En versión definitiva: 15-V-2001.

Aceptado: 17-V-2001.

Correspondencia: Dr. Víctor García Nieto

Unidad de Nefrología Pediátrica

Hospital Ntra. Sra. de Candelaria

Ctra. del Rosario, s/n.

38010 Santa Cruz de Tenerife

NEONATAL BARTTER'S DISEASE DIAGNOSED BY DETECTING A MUTATION IN THE *KCNJ1* GENE WHICH CODES FOR THE RENAL POTASSIUM CHANNEL ROMK1

SUMMARY

*We report clinical data of a female patient with Bartter's syndrome who was initially diagnosed with idiopathic hypercalciuria and, subsequently, with hyperprostaglandin E, syndrome. The patient was born after premature delivery with a history of polyhydramnios. During the first two years of life, in spite of evidence for significant failure to thrive, polyuria and special tendency to dehydration, she had no hypokalemia. The acid-base balance was normal except metabolic acidosis during the first few days after she was born. When hypercalciuria was observed, she was treated with thiazides and a low-salt diet. With such treatment she frequently showed hypokalemic alkalosis. Afterwards, once it was possible to determine the levels of renin and aldosterone and the urinary excretion of PGE₂, we suspected the diagnosis. DNA sequencing analysis showed that the patient carried a homozygotic mutation in the *KCNJ1* gene, coding for the potassium channel ROMK, which results in the premature termination of the protein. It is the first time that this mutation has been found in Spain. The detection of this mutation confirmed a disease that was initially of uncertain diagnosis.*

Key words: *Neonatal Bartter's disease. *KCNJ1* gen. Renal potassium channel ROMK1.*

INTRODUCCIÓN

En 1962, Bartter y cols. comunicaron los datos clínicos correspondientes a dos pacientes afectados de un nuevo síndrome caracterizado por hipertrofia e hiperplasia del aparato yuxtglomerular, hiperaldosteronismo con presión arterial normal, alcalosis metabólica hipopotasémica y defecto de la capacidad de concentración renal resistente a la acción de la pitresina. En ambos sujetos, se demostró un incremento de los niveles circulantes de angiotensina; además, la infusión de angiotensina II produjo un aumento de la tensión arterial considerablemente menor que el incremento inducido por dosis similares en sujetos normales¹.

En los pacientes afectados, los síntomas clínicos corresponden principalmente a los relacionados con la hipopotasemia, como debilidad muscular que puede llegar a tetraparesia flácida. Otros síntomas son poliuria y enuresis nocturna, vómitos, estreñimiento, apetencia por la sal y retraso del crecimiento. Desde hace años se suponía que la causa primaria debía ser un defecto en el cotransportador tubular de sodio, potasio y cloro (Na-K-2Cl) localizado en la rama ascendente gruesa del asa de Henle², sobre el que actúan algunos diuréticos como furosemida y bumetanida. Hallazgos recientes han establecido la

heterogeneidad genética del síndrome de Bartter permitiendo distinguir entre una forma muy grave de presentación antenatal (enfermedad de Bartter neonatal) y una forma de aparición algo más tardía, durante los primeros años de la vida (enfermedad de Bartter «clásica»).

En la enfermedad de Bartter neonatal se han identificado mutaciones en el gen *SLC12A1* (*NKCC2*), localizado en 15q15-21, que codifica el cotransportador luminal Na-K2Cl sensible a bumetanida o NKCC2³ (Bartter neonatal tipo I) y en el gen *KCNJ1*, localizado en el cromosoma 11q24-25, que codifica la síntesis del canal renal de potasio ROMK1 (Bartter neonatal tipo II)⁴⁻⁸. En la enfermedad de Bartter «clásica» (tipo III) se han identificado mutaciones en el gen *CLCNKB* situado en 1p36, codificador del canal renal de cloro CIC-Kb⁹. No obstante, existe otra variedad de enfermedad de Bartter que se asocia a sordera nerviosa y que depende de mutaciones de un gen, aún desconocido, situado en 1p31¹⁰.

La mayoría de las mutaciones del gen *KCNJ1* de pacientes con la enfermedad de Bartter neonatal tipo II^{4,5} están localizadas en el exón 5. Este gen, localizado en 11q24-25, ha sido clonado y secuenciado^{6,7}. Contiene cinco exones que se utilizan en distintas combinaciones para producir cinco isoformas

Tabla I. Determinaciones plasmáticas y urinarias en distintas edades

	16 meses	5 años	11 años	24 años
Pcr (mg/dl)	0,45	0,8	0,9	1,05
Ccr (ml/min/1,73 m ²)		135	92,8	75,2
PNa ⁺ (mEq/l)	142	135	143	143,7
PK ⁺ (mEq/l)	4,4	2,7	3,9	3,59
PCI ⁻ (mEq/l)	101	90	106	107,7
PCOH ₃ ⁻ (mEq/l)	21-24	32	-	-
PMg (mg/dl)	2,1	2,3	2,4	2,02
Purico (mg/dl)	6,0	6,4	7,2	7,8
Uvolumen (ml/día)	1.200	3.215	3.060	5.200
Uvolumen (ml/100 ml GFR)	-	4,4	5,06	6,77
EFNa (%)	-	2,7	0,78	1,42
EFK (%)	-	19,2	27,4	26,7
EFCl (%)	-	2,3	0,74	1,41
TRP (%)	71,6	85,6	83,6	84,1
UCa (mg/kg/día)	7,86	11,7	12,7	9,9
UMg (mg/kg/día)	1,3	3,7	3,5	4,5

Ccr: aclaramiento de creatinina. Pcr, PNa, PK, PCI, PHCO₃⁻, PMg, Purico: Niveles plasmáticos de creatinina, sodio, potasio, cloro, bicarbonato y ácido úrico, respectivamente. EFNa, EFK, EFCl: Excreciones fraccionales de sodio, potasio y cloro, respectivamente. TRP: Reabsorción tubular de fosfato. UCa y UMg: eliminación urinaria de calcio y magnesio, respectivamente.

del canal renal de potasio ROMK1 que difieren en el extremo amino. Todas las isoformas comparten los 372 aminoácidos codificados por el exón 5, y se expresan en el riñón, específicamente en la membrana apical de las células de la rama ascendente del asa de Henle así como también en la nefrona distal⁸. ROMK1 es una proteína con dos dominios intramembranarios que contienen el poro o canal y dos segmentos citosólicos amino y carboxi terminales⁵.

Presentamos una paciente afecta de enfermedad de Bartter neonatal tipo II cuyo diagnóstico, inicialmente incierto, ha sido confirmado tras el hallazgo de una mutación en uno de los genes implicados en la enfermedad.

PACIENTE, MATERIAL Y MÉTODOS

Paciente

Recién nacida producto de un embarazo de 30-31 semanas de gestación, tercero de su madre, en el que se constató la presencia de polihidramnios (abril de 1976). Los padres son primos segundos. El primer embarazo concluyó con un feto muerto comprobándose, asimismo, la existencia de un gran polihidramnios. El segundo embarazo transcurrió normalmente. El peso de la paciente al nacer fue de 1.240 g. Desde los primeros días de vida se observó una tendencia manifiesta a la intolerancia alimenticia con pérdida de peso y cuadros frecuentes de deshidratación, en los que se comprobó acidosis metabólica.

Se constató proteinuria moderada y glucosuria con niveles normales de glucemia. Al mes de vida, persistía la glucosuria; los niveles de creatinina y de iones eran normales, así como el equilibrio ácido-base. A partir de los dos meses de vida, varios urocultivos fueron positivos a *Proteus* y *Klebsiella*. A los tres meses de vida comenzó a presentar cuadros de fiebre elevada que cedían a la administración de agua. En este momento, se objetivó la existencia de poliuria y de orinas alcalinas y de densidad reducida. El ascenso de peso era muy lento, de tal modo que a los seis meses de vida el peso era únicamente de 2.400 g; en este momento, los iones y la bicarbonatemia eran normales, detectándose una eliminación urinaria de calcio muy incrementada (18,9 mg/kg/día) e hiperaminoaciduria, persistiendo las agujas febriles esporádicas. La urografía endovenosa mostró una buena capacidad de eliminación del contraste y la presencia de megavejiga.

A los 16 meses de vida se realizó un estudio más amplio de función renal en un Centro especializado en nefrología pediátrica (septiembre de 1977). En este momento, el peso era de 5.100 g. En los exámenes bioquímicos, los niveles de creatinina, iones y equilibrio ácido-base también fueron normales y se confirmó la hiper calciuria (tabla I). La capacidad de acidificación fue normal (pH mínimo tras estímulo con cloruro amónico: 5) y en la sobrecarga hiposalina existía una oferta salina incrementada a partir del túbulo proximal a las porciones distales de la nefrona (tabla II). Se diagnosticó de hiper calciuria idiopática y se recomendó tratamiento con hidrocortisida y dieta pobre en sal. A los dos años y

Tabla II. Valores obtenidos en las diversas sobrecargas hiposalinas realizadas

	17 meses	3 años	4,5 años*	5 años	15 años	Valores normales**
Ccr (ml/min/1,73m ²)	–	115,6	121,8	120,8	98,3	124,8 ± 25,2
UOsm (mOsm/kg)	–	110	50	75	92	48,00 ± 14,76
CH ₂ O + CNa %	23,5	43,7	16,2	21,2	15,0	11,58 ± 2,92
CH ₂ O %	14,0	27,3	13,6	11,7	10,7	10,13 ± 2,5
RDNa %	81,1	62,5	83,6	55,0	71,0	88,36 ± 1,92
CK %	36,0	–	19,6	41,4	43,9	7,99 ± 3,48

Ccr: aclaramiento de creatinina. UOsm: osmolalidad urinaria mínima. CH₂O + CNa %: aclaramiento de agua libre + sodio (oferta de sodio del túbulo proximal a las porciones distales de la nefrona). CH₂O: aclaramiento de agua libre. RDNa %: reabsorción de sodio en las porciones distales de la nefrona (CH₂Ox 100/CH₂O+CNa). CK: aclaramiento de potasio.

*Dieta estricta sin sal.

**Valores de normalidad en niños de más de dos años de edad de la Unidad de Pruebas Funcionales del Hospital Ntra. Sra. de Candelaria.

medio de edad, se suspendió el tratamiento tiazídico (febrero de 1979) por presentar varios episodios de descenso brusco de peso e hipopotasemia intensa (1,7-2,1 mEq/l) coincidiendo con cuadros respiratorios vanales. Tras la suspensión del fármaco, se normalizaron tanto la kaliemia como el equilibrio ácido-base, recibiendo tratamiento con una dieta estricta sin sal, como se recomendaba en ese momento para niños afectados de hipercalciuria idiopática severa¹¹. Con ese tipo de dieta, se observó disminución de la poliuria y de la polidipsia, la calciuria descendió desde 27 a 9,2 mg/kg/día, oscilando la kaliemia entre 3,2 y 4,4 mEq/l. El desarrollo ponderoestatura y psicomotor se observó deficiente, junto con un retraso en la edad ósea¹². A los cinco años (mayo de 1981) se pudo realizar una prueba de concentración con desmopresina (DDAVP), siendo la osmolalidad urinaria máxima de 178 mOsm/kg.

El manejo renal del sodio investigado mediante la realización de varias sobrecargas hiposalinas ha sido publicado parcialmente en forma de resumen¹³. La pérdida proximal de sodio persistía a los cinco años, aunque ya no estaba presente en la sobrecarga realizada a los 15 años (tabla II). Con respecto al defecto de reabsorción distal de sodio, pudo ponerse claramente de manifiesto en la segunda sobrecarga hiposalina, realizada a los tres años. Son llamativos los resultados alcanzados en la tercera sobrecarga, realizada con dieta estricta sin sal. En este caso, la oferta de sodio del túbulo proximal a las porciones distales de la nefrona y la reabsorción de sodio en ese último nivel, mejoraron notablemente alcanzando valores en el límite de la normalidad (tabla II).

En fin, al detectarse niveles de renina (114,3 ng/ml/h) y de aldosterona (4.820 pg/ml) muy elevados así como una eliminación urinaria de prostaglandina E₂ (PGE₂) incrementada (118,4 ng/hora/1,73 m²; normal: < 35), la paciente fue diagnosticada de síndrome de hiperprostaglandinismo E₂. Una ecografía renal realizada a

los nueve años de edad (julio de 1985) mostró la presencia de nefrocalcinosis. El tratamiento con indometacina y sales de potasio fue discontinuo por problemas familiares. Las determinaciones plasmáticas y urinarias en distintos momentos de la vida figuran en la tabla I. En la actualidad, la paciente tiene una insuficiencia renal crónica leve.

Amplificación y secuenciación del DNA

En nuestro estudio secuenciamos las regiones codificadoras del gen *KCNJ1*. El DNA genómico se puri-

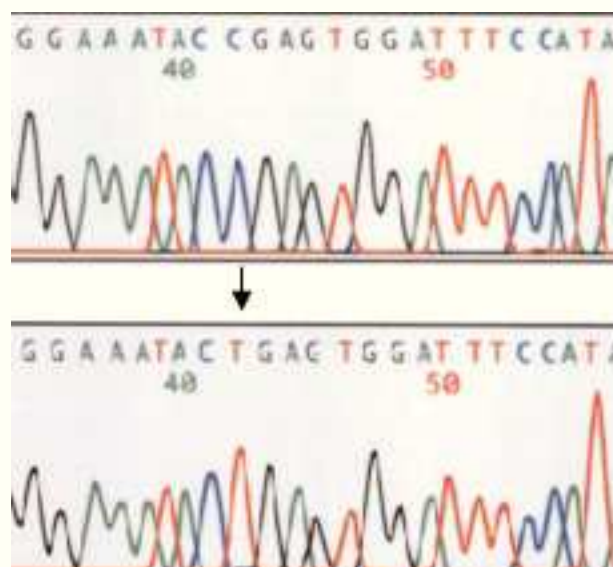


Fig. 1.—Mutación en el gen *KCNJ1*. Se muestra la secuencia parcial de la hebra de DNA con sentido de un individuo normal y del paciente afecto. La base cambiada está indicada con una flecha. Esta sustitución cambia el codón CGA (Arg 283) a TGA (STOP 283).

Tabla III. Mutaciones del gen *KCNJ1* identificadas en pacientes con el síndrome de Bartter neonatal

Mutaciones	Nucleótidos afectados	Codón	Consecuencia	Referencia
1	T a A en 776	72	Val → Glu	5
2	G a T en 781	74	Asp → Tyr	5
3	C a G en 798	79	Tyr → STOP	4
4	G a T en 858	99	Trp → Cys	5
5	G a C en 883	108	Asp → His	5
6	C a T en 890	110	Pro → Leu	5
7	T a A en 926	122	Val → Glu	5
8	T a A en 933	124	Asn → Lys	37
9	G a A en 1062	167	Gly → Glu	5
10	G a A en 1153	198	Ala → Thr	5
11	C a T en 1202	214	Ala → Val	4
12	C a G en 1218	219	Ser → Arg	4
13	T a G en 1505	315	Val → Gly	5
14	C a T en 1573	338	Arg → STOP	5
15	T a C en 1631	357	Met → Thr	4
16	Inserción de una T entre 652 y 659	32-33	Cambio de pauta de lectura a partir del codón 34	4
17	Inserción de una C entre 1055 y 1056	332	Cambio de pauta de lectura a partir del codón 354	37
18	Delección de AAAG en 1557-1560	332-333	Cambio de pauta de lectura a partir del codón 333	4
19	Delección de los exones 1 y 2	—	ROMK2 y ROMK3 no se expresan (?)	38

ficó a partir de sangre del paciente afecto utilizando el kit QIAamp DNA Blood y siguiendo las instrucciones del fabricante (Qiagen). Los exones 4 y 5 del gen *KCNJ1* se amplificaron mediante PCR utilizando DNA genómico y pares de cebadores diseñados a partir de la secuencia publicada del gen^{5,7}. El análisis de la secuencia del DNA de los productos de la PCR se realizó mediante el método de terminación de la cadena con dideoxynucleótidos utilizando un secuenciador automático ABI Prism modelo 3700 (Applied Biosystems). La mutación se confirmó secuenciando varios productos de PCR amplificados de manera independiente a partir del DNA genómico.

RESULTADOS

El gen que codifica la proteína humana ROMK (*KCNJ1*) produce cinco mRNAs distintos por «splicing» alternativo de sus cinco exones⁷. Estos cinco mRNAs comparten un exón común, el exón 5, que codifica la mayor parte de la proteína. El producto mayor, ROMK1, comienza en un codón de iniciación presente en el exón 4 y contiene 391 aminoá-

cidos. Basándonos en la secuencia de ROMK1, hemos utilizado cebadores para amplificar la secuencia codificadora de los exones 4 y 5 a partir de DNA genómico de nuestro paciente. El análisis de la secuencia del DNA amplificado mostró la presencia de una mutación homocigótica que cambia una C por una T en el nucleótido 1573 (fig. 1). Esta mutación hace que el codón de la arginina en la posición 338 de ROMK1 se convierta en un codón de terminación prematura (CGA-TGA). La proteína ROMK1 sintetizada en este caso carecería de 53 aminoácidos del extremo carboxilo.

DISCUSIÓN

Inicialmente, la paciente presentaba varios datos clínicos compatibles con el diagnóstico de enfermedad de Bartter neonatal como parto prematuro, polihidramnios retraso ponderal, poliuria con tendencia fácil a la deshidratación e hipercalcemia. El retraso en el diagnóstico de la paciente obedece a varios factores. En su año de nacimiento, era difícil tanto la determinación de los niveles de renina y de

aldosterona como la cuantificación de la eliminación urinaria de PGE₂. Tampoco se había implantado en nuestros hospitales la práctica de la ecografía renal que hubiera demostrado la existencia de nefrocalcinosis. No obstante, la principal objeción al diagnóstico era la ausencia tanto de alcalosis hipopotasémica en situación basal como de un manejo distal de cloro y sodio alterado en las porciones distales de la nefrona. Incluso, en los primeros días de vida tuvo acidosis metabólica. En publicaciones previas, se cita como algunos pacientes afectados de síndrome de Bartter debutaron con acidosis metabólica en lugar de alcalosis¹⁴⁻¹⁸ e, incluso, fueron diagnosticados de acidosis tubular renal^{14,15,18}. La presencia de acidosis metabólica, al menos en las primeras semanas de la vida, ha sido observada en pacientes con enfermedad de Bartter neonatal tanto en el tipo I¹⁸ como en el II¹⁹. Además, algunos de los pacientes con síndrome de Bartter tenían normo o hiperkaliemia^{16,18,20,21}. En algunos casos, incluso, la hipopotasemia apareció a los 4 o a los 11 años de edad¹⁸. Por otra parte, la alteración en el manejo proximal renal del sodio observada en nuestra paciente, al menos, en los cinco primeros años de vida, ha sido descrita en algunos sujetos diagnosticados de síndrome de Bartter, asociada¹⁵ o no²² a un defecto de reabsorción distal. Esa situación de acidosis metabólica y pérdida salina, incluso con hiperpotasemia, que se ha comunicado en algún paciente con enfermedad de Bartter neonatal tipo II¹⁹ es similar a la descrita en el pseudohipoaldosteronismo primario.

Antes de tener constancia de los hallazgos genéticos que han explicado la diversidad fisiopatológica del síndrome de Bartter, a mediados de los años 80 se intentó definir un nuevo trastorno denominado como síndrome de hiperprostaglandinismo E₂²³⁻²⁶ en el que se incluirían los recién nacidos con características clínicas y bioquímicas de enfermedad de Bartter neonatal. Seyberth y cols. sugirieron que la anomalía fundamental, en estos casos, sería una hiperproducción renal y sistémica de prostaglandinas²³. Las diferencias con el síndrome de Bartter radicaría en un defecto llamativo en la capacidad de concentración consistente en isostenuria²³, una marcada reducción de la síntesis de la proteína de Tamm-Horsfall²⁴ y una reabsorción distal de cloro normal²³. Curiosamente, tres de los cinco pacientes de la publicación original²³ tendrían valores de reabsorción distal de cloro por debajo de lo normal si los comparamos con los registrados en nuestros propios controles (< 85,2%)²⁷. En todo caso, Rodríguez Soriano considera que los diferentes mecanismos fisiopatológicos observados en niños con enfermedad de Bartter neonatal obedecerían a mutaciones en los

genes que codifican las proteínas NKCC2 y ROMK1, por lo que no estaría justificado emplear el término de síndrome de hiperprostaglandinismo E₂¹⁹. La hiperproducción de prostaglandinas en esos pacientes sería secundaria a la hipokaliemia crónica y al exceso de angiotensina II^{19,28}.

La pérdida de función de ROMK1, debida a mutaciones en el gen *KCNJ1* (tabla III), altera la capacidad para reciclar el potasio desde las células hacia la luz tubular, con lo que la concentración del potasio luminal es demasiado baja para mantener la actividad del cotransportador luminal Na-K-2Cl²⁹. La consecuencia es pérdida salina, contracción de volumen, incremento de la síntesis de renina, hiperaldosteronismo secundario e incremento de la reabsorción de sodio en las porciones distales de la nefrona en intercambio por potasio e hidrógeno que son secretados, con la consecuencia de alcalosis hipopotasémica e hiperproducción de prostaglandinas. El incremento de secreción de PGE₂ agravaría la situación mediante la estimulación por una vía independiente del eje renina-aldosterona^{30,31} y la inhibición tanto de la actividad del canal ROMK1³² como del transporte de cloro y sodio en la rama ascendente gruesa del asa de Henle³³.

Nuestra paciente es portadora de una mutación homocigótica que cambia una C por una T en el nucleótido 1573 (fig. 1). Esta mutación hace que la arginina en la posición 338 de ROMK1 se convierta en un codón de terminación prematura, por lo que se suprimen 53 residuos de la porción carboxiterminal. Dicha mutación, descrita previamente en una familia de origen belga, puede alterar la fosforilación por parte de la tirosina kinasa de la tirosina 337⁵. La importancia de esta fosforilación se desconoce hasta el momento. Sin embargo, estudios recientes indican que el extremo carboxilo de ROMK1 (aminoácidos 332 al 391) constituye un dominio necesario para la función del canal³⁴.

Los hallazgos genéticos que han explicado la diversidad fisiopatológica del síndrome de Bartter justifican que, en sentido estricto, en los casos en los que se ha encontrado una mutación causal, deba emplearse, con mayor propiedad, el término *enfermedad de Bartter*³⁵, por lo que debería reservarse la expresión *síndrome de Bartter* para aquellos casos en los que aún no se ha detectado ninguna mutación³⁶. Las muestras de DNA obtenidas de pacientes clínicamente diagnosticados de síndrome de Bartter, permiten realizar el diagnóstico molecular que previsiblemente, en un futuro próximo, permitirá ofrecer alternativas terapéuticas a estos enfermos. En fin, es posible que esta alternativa diagnóstica sea útil, asimismo, para realizar el diagnóstico prenatal de esta enfermedad tubular renal.

Agradecimientos

Los autores deseamos expresar nuestro agradecimiento a los miembros de la familia afectada por su colaboración y a Hilaria González Acosta por su asistencia en las extracciones de sangre y DNA. FCM y VGN recibieron financiación del Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS) del Ministerio de Sanidad y Consumo, proyecto 98/1179, y de la Consejería de Educación, Cultura y Deportes del Gobierno de Canarias, proyecto 97/051.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bartter FC, Pronove P, Gill JR Jr, MacCardle RC, Diller E: Hyperplasia of the yuxtaglomerular complex with hyperaldosteronism and hypokalemic alkalosis. *Am J Med* 33: 811-828, 1962.
2. Kurtzman NA, Gutiérrez LF: The pathophysiology of Bartter's syndrome. *JAMA* 234: 758-759, 1975.
3. Simon DB, Karet FE, Hamdan JM, DiPietro A, Sanjad SA, Lifton RP: Bartter's syndrome, hypokalaemic alkalosis with hypercalciuria, is caused by mutations in the NaK-20 cotransporter NKCC2. *Nat Genet* 13: 183-188, 1996.
4. Simon DB, Karet FE, Rodríguez-Soriano J, Hamdan JH, DiPietro A, Trachtman H, Sanjad SA, Lifton RP: Genetic heterogeneity of Bartter's syndrome revealed by mutations in the K⁺ channel, ROMK1. *Nat Genet* 14: 152-156, 1996.
5. The International Collaborative Study Group for Bartter-like syndromes: Mutations in the gene encoding the inwardly-rectifying renal potassium channel, ROMK1, cause the antenatal variant of Bartter syndrome: evidence for genetic heterogeneity. *Hum Mol Genet* 6: 17-26, 1997. (Erratum, *Hum Mol Genet* 6: 650.)
6. Yano H, Philipson L, Kugler J, Tokuyama Y, Davis E, Beau ML, Nelson D, Bell G, Takeda J: Alternative splicing of human inwardly rectifying K⁺ channel ROMK1 mRNA. *Mol Pharmacol* 45: 854-860, 1994.
7. Shuck M, Bock J, Benjamin C, Tsai TD, Lee K, Slightom J, Bienkowski M. Cloning and characterization of multiple forms of the human kidney ROMK1 potassium channel. *J Biol Chem* 269: 24261-24270, 1994.
8. Herbert SC: An ATP-regulated, inwardly rectifying potassium channel from rat kidney (ROMK1). *Kidney Int* 48: 1010-1016, 1995.
9. Simón DB, Bindra RS, Mansfield TA, Nelson-Williams C, Mendonca E, Stone R, Schurman S, Nayir A, Alpay H, Bakkaloglou A, Rodríguez-Soriano J, Morales JM, Sanjad SA, Taylor CM, Pilz D, Brem A, Trachtman H, Griswold W, Richard GA, John E, Lifton RP: Mutations in the chloride channel gene, ClCNKB, cause Bartter's syndrome type III. *Nat Genet* 17: 171-178, 1997.
10. 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* 59: 454-459, 1995.
11. Royer P: Hipercalcemia idiopática. En: Royer P, Habib R, Mathieu H, Broyer M (eds): *Nefrología Pediátrica*. Barcelona: Ed Esp. Toray. p. 46-48, 1975.
12. García Nieto VM, Chahin J: Tubulopatías y trastornos del metabolismo mineral. *Nefrología* 17: 1-23, 1997.
13. García Nieto V, Melchor Pérez E, Souto Martínez I, Oliveros Pérez R: Manejo renal del sodio en la hipercalcemia idiopática tipo Royer. *An Esp Pediatr* 18: 330, 1983.
14. Takeda R, Morimoto S, Kuroda M, Murakami M: Renal tubular acidosis presenting as a syndrome resembling Bartter's syndrome, in a patient with arachnodactyly. *Acta Endocrinol (Copenh)* 73: 531-542, 1973.
15. Rodríguez-Soriano J, Vallo A, Oliveros R: Bartter's syndrome presenting with features resembling renal tubular acidosis. Improvement of renal tubular defects by indomethacin. *Helv Paediatr Acta* 33: 141-151, 1978.
16. Dillon MJ, Shah V, Mitchell MD: Bartter's syndrome: 10 cases in childhood. *Q J Med* 191: 429-446, 1979.
17. Ammenti A, Montali S: «Neonatal variant» of Bartter syndrome presenting with acidosis. *Pediatr Nephrol* 10: 79-80, 1996.
18. Bettinelli A, Ciarmatori S, Cesareo L, Tedeschi S, Ruffa G, Appiani AC, Rosini A, Grumieri G, Mercuri B, Sacco M, Leozappa G, Binda S, Ceconi M, Navone C, Curcio C, Syren NIL, Casari G: Phenotypic variability in Bartter syndrome type I. *Pediatr Nephrol* 14: 940-945, 2000.
19. Rodríguez-Soriano J: Bartter and related syndromes: the puzzle is almost solved. *Pediatr Nephrol* 12: 315-327, 1998.
20. Proesmans W: Bartter syndrome and its neonatal variant. *Eur J Pediatr* 156: 669-679, 1997.
21. Madrigal G, Savorio P, Mora F, Rincón G, Guay-Woodford LM: Bartter syndrome in Costa Rica: a description of 20 cases. *Pediatr Nephrol* 11: 296-301, 1997.
22. Tomko DJ, Yeh BPY, Falls WF Jr: Bartter's syndrome. Study of a 52-year-old man with evidence of a defect in proximal tubular reabsorption and comments on therapy. *Am J Med* 61: 111-118, 1976.
23. Seyberth HW, Rascher W, Schweer H, Kühl PG, Mehls O, Schäfer K: Congenital hypokalemia with hypercalciuria in preterm infants: a hyperprostaglandinuric tubular syndrome different from Bartter syndrome. *J Pediatr* 107: 694-701, 1985.
24. Schröter J, Timmermans G, Seyberth HW, Greven J, Bachmann S: Marked reduction of Tamm-Horsfall protein synthesis in hyperprostaglandin E-syndrome. *Kidney Int* 44: 401-410, 1993.
25. Köckerling A, Reinalter SC, Seyberth HW: Impaired response to furosemide in hyperprostaglandin E syndrome: evidence for a tubular defect in the loop of Henle. *J Pediatr* 129: 519-528, 1996.
26. Welch TR: The hyperprostaglandin E syndrome: a hypercalciuric variant of Bartter's syndrome. *J Bone Min Res* 12: 1753-1754, 1997.
27. García-Nieto V, Monge M, Navarro-Gortáñez JF, Chahin J, del Castillo N, Rivero A: Differences in renal handling of sodium after hyposaline loading between children and adults with idiopathic hypercalciuria. En: Jungers P, Daudon M (eds): *Renal stone disease. Crystallization process, pathophysiology, metabolic disorders and prevention*. Paris: Elsevier. p. 99-100, 1997.
28. Senba S, Konishi K, Saruta T, Ozawa Y, Kato Z, Awagasaki Y, Nakata I: Hypokalemia and prostaglandin overproduction in Bartter's syndrome. *Nephron* 37: 257-263, 1984.
29. Derst C, Konrad M, Köckerling L, Deschenes G, Daut J, Karschin A, Seyberth HW: Mutations in the ROMK1 gene in antenatal Bartter syndrome are associated with impaired K⁺ channel function. *Biochem Biophys Res Commun* 230: 641-645, 1997.
30. Henrich WL: Role of the prostaglandins in renin secretion. *Kidney Int* 19: 822-830, 1981.
31. Weber P, Larsson E, Anggard E, Hamberg M, Corey E, Nicolaou C, Samuelsson B: Stimulation of renin release from rabbit renal cortex by arachidonic acid and prostaglandin endoperoxides. *Circ Res* 39: 868-874, 1976.
32. Macica CM, Yang Y, Hebert SC, Wang WH: Arachidonic acid inhibits activity of cloned renal K⁺ channel, ROMK1. *Am J Physiol* 271: F588-F594, 1996.

33. Stokes J: Effect of prostaglandin E₂ on chloride transport across the rabbit thick ascending limb of Henle. *J Clin Invest* 64: 495-502, 1979.
34. Flagg TP, Tate M, Merot J, Welling PA: A mutation linked with Bartter's syndrome locks Kir 1.1a (ROMK11) channels in a closed state. *J of Gen Physiol* 114: 685-700, 1999.
35. García Nieto VM: ¿Qué es y qué no es síndrome de Bartter? *Med Clin (Barc)* 102: 116-117, 1994.
36. Bhandari S, Turney JH: The molecular basis of hypokalaemic alkalosis: Bartter's and Gitelman syndromes. *Nephron* 80: 373-379, 1998.
37. Derst C, Wischmeyer E, Preisig-Müller, R. Spauschus A, Konrad M, Hensen P, Jeck N, Seyberth HW, Daut J, Karschin A: A hyperprostaglandin E syndrome mutation in Kir 1.1 (Renal Outer Medullary Potassium) channels reveals a crucial residue for channel function in Kir 1.3 channels. *J Biol Chem* 273: 23884-23891, 1998.
38. Feldmann D, Alessandri JL, Deschenes G: Large deletion of the 5' end of the ROMK11 gene causes antenatal Bartter syndrome. *J Am Soc Nephrol* 12: 2357-2359, 1998.