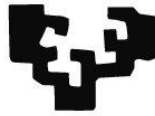


eman ta zabal zazu



Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

Facultad de Medicina y Enfermería
Departamento de Pediatría

Evolución clínica de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III

Tesis Doctoral

Leire Gondra Sangroniz
Hospital Universitario Cruces 2021

Agradecimientos_

Empecé a trabajar en el Hospital Universitario Cruces en la sección de Nefrología Infantil en el año 2016. El Doctor Luis Castaño, coordinador del Área de Endocrinología, Metabolismo, Nutrición y Enfermedades renales del Instituto de Investigación Sanitaria IIS Biocruces Bizkaia, y la Dra. Leire Madariaga, coordinadora del grupo de Enfermedades Renales Hereditarias y Raras, me propusieron realizar la tesis doctoral sobre el Síndrome de Bartter.

Me gustaría agradecer a todos los que habéis contribuido en la elaboración de esta tesis doctoral. Por un lado, gracias a mis directores por el apoyo y el empuje constante: Leire Madariaga y Luis Castaño. Leire Madariaga por enseñarme tanto, por su disposición siempre positiva, la paciencia y el cariño en las largas correcciones de la tesis; sin su apoyo no la hubiera sacado adelante. Luis, constante y exigente, siempre detrás para comprobar cómo iba avanzando en mi trabajo. Gracias también a Alejandro García por su colaboración y paciencia a la hora de enseñarme a interpretar los estudios genéticos.

Por otro lado, quería agradecer a mi familia por el soporte continuo que me han dado en estos años. A Javi, por su apoyo en todo momento. A Mikel, que me ha ayudado pacientemente en la elaboración de las figuras de la tesis.

Por último, me gustaría agradecer a todos los pacientes y sus familiares su participación, y a los médicos que han remitido las muestras y han contribuido con información clínica a la realización de este proyecto.

Gracias a todos

GLOSARIO DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y SIGLAS

ACEi	Del inglés, <i>Angiotensin-Converting-Inhibitors</i>
ACMG	Del inglés, <i>American College of Medical Genetics and Genomics</i>
AD	Patrón de Herencia Autosómico Dominante
adPHA1	Pseudohipoaldosteronismo tipo 1 autosómico dominante
ADH	Del inglés, <i>AntiDiuretic Hormone</i>
ADN	Ácido Desoxirribunocleico
AE1	Del inglés, <i>Anion Exchanger 1</i>
AE4	Del inglés, <i>Anion Exchanger 4</i>
AINEs	Antiinflamatorios No Esteroides
AQP1	Aquaporina Tipo 1
AQP2	Aquaporina Tipo 2
AQP3	Aquaporina Tipo 3
AQP4	Aquaporina Tipo 4
AR	Patrón de herencia Autosómico Recesivo
ARN	Ácido Ribonucleico
arPHA1	Pseudohipoaldosteronismo tipo 1 autosómico recesivo
AT1	Del inglés, <i>Angiotensin II Receptor Type 1 gene</i>
ATPasa	Del inglés, <i>Adenosine Triphosphatase</i>
ATP6V0A4	Del inglés, <i>ATPase H Transporting V0 Subunit A4 gene</i>
ATP6V1B1	Del inglés, <i>ATPase H Transporting V1 Subunit B1 gene</i>
AVPR2	Del inglés, <i>Arginine Vasopressin Receptor 2 gene</i>
B	Del inglés, <i>Benign variant</i>
BK	Del inglés, <i>Big Potassium channel</i>
BSND	Del inglés, <i>Bartter syndrome SensoriNeural Deafness gene</i>
CAII	Del inglés, <i>Carbonic Anhidrase Type II</i>
CA2	Del inglés, <i>Carbonic Anhidrase II gene</i>
CACNAIH	Del inglés, <i>Calcium voltage-gated Channel Subunit Alpha1 H gene</i>
CAIV	Del inglés, <i>Carbonic Anhidrase type IV</i>
CASR	Del inglés <i>Calcium Sensor Receptor gene</i>
CBS	Del inglés, <i>Cystathionine-Beta-Synthase</i>
Cr	Creatinina
CFEX	Del inglés <i>Chloride Formate Exchanger</i>
CFTR	Del inglés, <i>Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator</i>
CIC-5	Del inglés, <i>Chloride Channel 5</i>
CLCN5	Del inglés, <i>Chloride Voltage-Gated Channel 5</i>
CIC-Ka	Del inglés, <i>Chloride Voltage-Gated Channel Ka</i>

CIC-Kb	Del inglés, <i>Chloride Voltage-Gated Channel Kb</i>
CLCN2	Del inglés, <i>Chloride Voltage-Gated Channel 2 gene</i>
CLCNKA	Del inglés, <i>Chloride Voltage-Gated Channel Ka gene</i>
CLCNKB	Del inglés, <i>Chloride Voltage-Gated Channel Kb gene</i>
CLDN10	Del inglés, <i>Claudin 10 gene</i>
CUL3	Del inglés, <i>Ubiquitin Ligase Cullin 3</i>
CYP11B1	Del inglés, <i>Cytochrome P450 Family 11 Subfamily B Member 1 gene</i>
dbSNP	Del inglés, <i>Single Nucleotide Polymorphism Database</i>
DE	Desviación estándar
dNTPs	Deoxinucleótidos trifosfato
EAST/SeSAME	Del inglés, <i>Epilepsy, Ataxia, Sensorineural Deafness, Tubulopathy/Seizures, Sensorineural Deafness, Ataxia, Mental Retardation</i>
EDTA	Ácido etileno-diamino-tetra-acético
EFCI	Excreción Fraccionada de Cloro
EFK	Excreción Fraccionada de Potasio
EFNa	Excreción Fraccionada de Sodio
EG	Edad gestacional
EHHADH	Del inglés, <i>Enoyl-CoA Hydratase And 3-Hydroxyacyl CoA Dehydrogenase gene</i>
ENaC	Del inglés, <i>Epithelial Sodium Channel</i>
ERC	Enfermedad Renal Crónica
FGE	Filtrado Glomerular Estimado
g	Gramo
GATM	Del inglés, <i>Glycine Amidinotransferase gene</i>
GH	Del inglés, <i>Growth Hormone</i>
GO	Del inglés, <i>Gene Ontology</i>
H	Patrón de Herencia
HELIX	Del inglés, <i>Hypohidrosis. Electrolyte imbalance, Lacrimal gland dysfunction, Ichthyosis and Xerostomía</i>
HNF1B	Del inglés, <i>hepatocyte nuclear factor 1β gene</i>
HNF4A	Del inglés, <i>Hepatocyte Nuclear Factor 4 alpha gene</i>
HNF4A	Del inglés, <i>Hepatocyte Nuclear Factor 4 alpha</i>
HSD11B2	Del inglés, <i>Hydroxysteroid 11-Beta Dehydrogenase 2 gene</i>
IECA	Inhibidor de la Enzima Convertidora de Angiotensina
IGF-1	Del inglés, <i>Insulin-like Growth Factor Type 1</i>
KCC4	Del inglés, <i>Potassium Chloride Cotransporter 4</i>
KCNJ5	Del inglés, <i>Potassium voltage-gated channel subfamily J member 5 gene</i>
KCNJ1	Del inglés <i>Potassium Inwardly Rectifying Channel Subfamily J Member 1 gene</i>
KCNJ10	Del inglés <i>Potassium Inwardly Rectifying Channel Subfamily J Member 10 gene</i>
KDIGO	Del inglés, <i>Kidney Disease: Improving Global Outcomes guidelines</i>
Kir1.1	Del inglés, <i>Inwardly Rectifying Potassium Channel Subunit 1.1</i>

Kir4.1	Del inglés, <i>Inwardly Rectifying potassium Channel Subunit 4.1</i>
Kir4.2	Del inglés, <i>Inwardly Rectifying potassium Channel Subunit 4.2</i>
Kir5.1	Del inglés, <i>Inwardly Rectifying Potassium Channel Subunit 5.1</i>
KLH3	Del inglés, <i>Kelch-like-3</i>
Kv1.1	Del inglés, <i>Potassium Voltage-gated Channel Subfamily A Member 1</i>
LB	Del inglés, <i>Likely Benign variant</i>
LP	Del inglés, <i>Likely Pathogenic variant</i>
MAF	Del inglés, <i>Minor Allele Frequency</i>
MAGED2	Del inglés, <i>Melanoma Associated Antigen Family Member D2 gene</i>
MAU	Microalbúmina
Maxi-K	Del inglés, <i>Large-conductance calcium-activated potassium channel</i>
mg	Miligramo
MLPA	Del inglés, <i>multiplex ligation-dependent probe amplification</i>
MODY	Del inglés, <i>Maturity Onset Diabetes of the Young</i>
mV	miliVoltios
NaDC-1	Del inglés, <i>Sodium Dicarboxylate Cotransporter 1</i>
NaPi-IIa	Del inglés <i>Sodium-inorganic Phosphate co-Transporter Type IIa</i>
NaPi-IIc	Del inglés <i>Sodium-inorganic Phosphate co-Transporter Type IIc</i>
NaS-1	Del inglés, <i>Sodium Sulfate Cotransporter 1</i>
NBC1eA	Del inglés, <i>Electrogenic Sodium Bicarbonate Cotransporter 1A</i>
NC	Nefrocalcinosis
NCC	Del inglés, <i>Sodium Chloride Cotransporter</i>
NCX	Del inglés, <i>Sodium-Calcium Exchanger</i>
NCX 1	Del inglés, <i>Sodium-Calcium Exchanger Type 1</i>
ND	No determinado
NDCBE	Del inglés, <i>Sodium-Driven Chloride/Bicarbonate Exchanger</i>
NGS	Del inglés, <i>Next Generation Sequencing</i>
NHE1	Del inglés, <i>Sodium-Hydrogen Antiporter</i>
NHE3	Del inglés, <i>Sodium and Hydrogen Exchanger Isoform 3</i>
NHE4	Del inglés <i>Sodium and Hydrogen Exchanger Isoform 4</i>
NHE8	Del inglés <i>Sodium and Hydrogen Exchanger Isoform 8</i>
NKCC2	Del inglés <i>Sodium-Potassium-2 Chloride Cotransporter</i>
NR3C2	Del inglés, <i>Nuclear Receptor Subfamily 3 Group C Member 2 gene</i>
ns	Estadísticamente no significativo
OCRL	Del inglés, <i>Oculocerebrorenal Syndrome gene</i>
OSR1	Del inglés, <i>Oxidative Stress-Responsive 1 protein</i>
P	Del inglés, <i>Pathogenic variant</i>
PANTHER	Del inglés, <i>Protein Analysis Through Evolutionary Relationships</i>

pb	Pares de bases (de ADN)
PCR	Del inglés, <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PDB/DSSP	Del inglés, <i>Dictionary of Secondary Structure in Proteins</i>
PGE2	Prostaglandina E2
PH	Polihidramnios
PiT-2	Del inglés, <i>Inorganic Phosphate Transporter 2</i>
PROVEAN	Del inglés, <i>Protein Variation Effect Analyzer</i>
PSI-BLAST	Del inglés, <i>Position-Specific Iterative Basic Local Alignment Search Tool</i>
QMPSF	Del inglés, <i>Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments</i>
RD	Riñón Derecho
RI	Riñón Izquierdo
RN	Recién Nacido
RNPT	Recién Nacido Pretérmino
ROMK	Del inglés, <i>Renal Outer Medullary Potassium Channel</i>
SBI	Síndrome de Bartter Tipo I
SBII	Síndrome de Bartter Tipo II
SBIII	Síndrome de Bartter Tipo III
SBIVa	Síndrome de Bartter Tipo IVa
SBIVb	Síndrome de Bartter Tipo IVb
SCNNIA	Del inglés, <i>Sodium Channel Epitelial 1 Alpha Subunit</i>
SCNNIB	Del inglés, <i>Sodium Channel Epitelial 1 Beta Subunit</i>
SCNNIG	Del inglés, <i>Sodium Channel Epitelial 1 Gamma Subunit</i>
SGAAH	Segmento grueso del asa ascendente de Henle
SGLT1	Del inglés, <i>Sodium-Glucose Transporter 1</i>
SGLT2	Del inglés, <i>Sodium-Glucose Transporter 2</i>
SIFT	Del inglés, <i>Sorting Intolerant From Tolerant</i>
SLC4A1	Del inglés, <i>Solute Carrier Family 4 Member 1 gene</i>
SLC4A4	Del inglés, <i>Solute Carrier Family 4 Member 4 gene</i>
SLC5A1	Del inglés, <i>Solute Carrier Family 5 Member 1 gene</i>
SLC5A2	Del inglés, <i>Solute Carrier Family 5 Member 2 gene</i>
SLC9A3	Del inglés <i>Solute Carrier Family 9 Member 3 gene</i>
SLC12A1	Del inglés, <i>Solute Carrier Family 12 Member 1 gene</i>
SLC12A3	Del inglés, <i>Solute Carrier Family 12 Member 3 gene</i>
SLC12A7	Del inglés, <i>Solute Carrier Family 12 Member 7 gene</i>
SLC20A2	Del inglés <i>Solute Carrier Family 20 Member 2 gene</i>
SLC26A3	Del inglés <i>Solute Carrier Family 26 Member 3 gene</i>
SLC34A1	Del inglés, <i>Solute Carrier Family 34 Member 1 gene</i>
SLC34A3	Del inglés, <i>Solute Carrier Family 34 Member 3 gene</i>

SLC41A1	Del inglés, <i>Solute Carrier Family 41 Member 1</i>
SNP	Del inglés, <i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (Polimorfismo de nucleótido único)
SPAK	Del inglés, <i>Proline/Alanine-rich Kinase protein</i>
SRAA	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
SVM	Del inglés, <i>Support Vector Machine</i>
TC	Túbulo Colector
TCD	Túbulo Contorneado Distal
TP	Túbulo Proximal
TRPM6	Del inglés, <i>Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily M Member 6</i>
TRPV5	Del inglés, <i>Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily V Member 5</i>
Ud	Unidades
V2R	Del inglés, <i>Vassopressin Receptor 2</i>
VN	Valor normal
VOUS	Del inglés, <i>Variant Of Uncertain Significance</i>
vs.	<i>versus</i>
WNK	Del inglés, <i>With-no-Lysine Kinase</i>
WNK1	Del inglés, <i>With-no-Lysine Kinase Type 1</i>
WNK3	Del inglés, <i>With-no-Lysine Kinase Type 3</i>
WNK4	Del inglés, <i>With-no-Lysine Kinase Type 4</i>
XR	Patrón de herencia recesivo ligado al cromosoma X

ÍNDICE

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	19
I. INTRODUCCIÓN	23
1. MANEJO TUBULAR DEL AGUA Y ELECTROLITOS	25
1.1. Túbulo proximal	27
1.2. Asa de Henle	35
1.3. Túbulo contorneado distal	44
1.4. Túbulo colector	49
2. TUBULOPATÍAS PIERDE SAL	56
2.1. Clasificación de las tubulopatías pierde sal.....	56
2.2. Presentación clínica y mecanismos fisiopatológicos de las tubulopatías pierde sal.....	60
3. SÍNDROME DE BARTTER TIPO III	70
3.1. Signos clínicos y alteraciones hidroelectrolíticas en el Síndrome de Bartter Tipo III.....	70
3.2. Diagnóstico diferencial del Síndrome de Bartter Tipo III	72
3.3. Tratamiento en el Síndrome de Bartter Tipo III	77
3.4. Estructura y función del canal de cloro ClC-Kb.....	80
3.5. Características moleculares en el Síndrome de Bartter Tipo III. Correlación genotipo-fenotipo en el Síndrome de Bartter Tipo III	83
3.6. Evolución a largo plazo del Síndrome de Bartter Tipo III	85
II. HIPÓTESIS	87
III. OBJETIVOS	91
1. OBJETIVO GENERAL	93
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	93
IV. POBLACIÓN Y MÉTODOS	95
1. POBLACIÓN	97
2. METODOLOGÍA	98
2.1. Información clínica al diagnóstico de la enfermedad y al final del estudio.....	98
2.2. Características moleculares de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III	107
2.3. Análisis molecular del gen <i>CLCNKB</i>	108
2.4. Análisis estadístico.....	115
2.5. Aspectos éticos.....	117
2.6. Limitaciones del estudio.....	118
V. RESULTADOS	121
1. DATOS DEMOGRÁFICOS	123
2. CARACTERÍSTICAS PERINATALES	124
3. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y TRATAMIENTO DE LA COHORTE AL DIAGNÓSTICO Y AL FINAL DEL ESTUDIO	125
3.1. Fenotipo clínico de presentación de los pacientes de la cohorte al diagnóstico de la enfermedad.....	126
3.2. Edad de los pacientes de la cohorte al diagnóstico y al final del estudio	126
3.3. Signos clínicos de la cohorte al diagnóstico y al final del estudio. Desarrollo neurológico y patologías psiquiátricas a largo plazo.....	128
3.4. Alteraciones hidroelectrolíticas de la cohorte	131
3.5. Nefrocalcinosis, litiasis y otras malformaciones renales en la ecografía renal.....	141
3.6. Desarrollo ponderoestatural de la cohorte	146
3.7. Función renal de la cohorte	156

3.8. Tratamiento al diagnóstico y al final del estudio.....	164
3.9. Comparación de las características clínicas según el fenotipo clínico de presentación	168
3.10. Descripción de las familias con más de un miembro afecto de Síndrome de Bartter Tipo III	174
4. CARACTERÍSTICAS MOLECULARES	179
5. DESCRIPCIÓN DE LOS PACIENTES CON LA VARIANTE ESPAÑOLA p.Ala204Thr EN HOMOCIGOSIS.....	187
6. CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO.....	190
7. DESCRIPCIÓN DE LOS EMBARAZOS Y SUS COMPLICACIONES EN LAS MUJERES CON SÍNDROME DE BARTTER TIPO III	196
VI. DISCUSIÓN	197
1. FENOTIPOS CLÍNICOS DE PRESENTACIÓN EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III	199
2. CARACTERÍSTICAS PERINATALES EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III	200
3. EDAD AL DIAGNÓSTICO DEL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III	201
4. SIGNOS CLÍNICOS Y DESARROLLO NEUROLÓGICO EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III	203
5. ALTERACIONES HIDROELECTROLÍTICAS EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III	207
6. NEFROCALCINOSIS, LITIASIS Y OTRAS MALFORMACIONES RENALES EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III.....	218
7. DESARROLLO PONDEROESTATURAL EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III	224
8. LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III	230
9. EL TRATAMIENTO CON ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS Y SUS COMPLICACIONES EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III.....	239
10. CARACTERÍSTICAS MOLECULARES EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III	242
11. CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III	245
12. COMPLICACIONES DURANTE EL EMBARAZO EN LAS MUJERES AFECTAS DE SÍNDROME DE BARTTER TIPO III.....	250
VII. RESUMEN DE LOS HALLAZGOS	253
VIII. CONCLUSIONES	261
IX. BIBLIOGRAFÍA	267
X. ANEXOS	293

INDICE DE TABLAS

TABLA 1 PRINCIPALES TUBULOPATÍAS PIERDE SAL EN EL TÚBULO PROXIMAL.....	29
TABLA 2 PRINCIPALES TUBULOPATÍAS PIERDE SAL EN EL ASA DE HENLE.	39
TABLA 3. PRINCIPALES TUBULOPATÍAS PIERDE SAL EN EL TÚBULO CONTORNEADO DISTAL.....	45
TABLA 4 PRINCIPALES TUBULOPATÍAS PIERDE SAL EN EL TÚBULO COLECTOR.....	50
TABLA 5. CLASIFICACIÓN FISIOLÓGICA Y FARMACOLÓGICA DE LAS TUBULOPATÍAS PIERDE SAL. MODIFICADO DE SEYBERTH (149)	58
TABLA 6. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y BIOQUÍMICAS DE LAS PRINCIPALES TUBULOPATÍAS PIERDE SAL. MODIFICADO DE KONRAD ET AL (162).....	69
TABLA 7. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III	73
TABLA 8. VALORES NORMALES DE DIURESIS. MODIFICADO DE BARAKAT AY (280). 100	
TABLA 9. RESUMEN DE LOS DATOS PERINATALES DE LOS PACIENTES DE LA COHORTE (N=47 PACIENTES).....	124
TABLA 10. RELACIÓN ENTRE LA EDAD Y EL AÑO DEL DIAGNÓSTICO CLÍNICO (N=49 PACIENTES).....	128
TABLA 11. ALTERACIONES HIDROELECTROLÍTICAS DE LOS PACIENTES DE LA COHORTE AL DIAGNÓSTICO Y AL FINAL DEL ESTUDIO (N=49 PACIENTES)	133
TABLA 12. COMPARACIÓN DE LAS ALTERACIONES HIDROELECTROLÍTICAS EN PLASMA AL DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE LA ENFERMEDAD SEGÚN LA EDAD DE LOS PACIENTES (N=49 PACIENTES)	139
TABLA 13. NÚMERO DE PACIENTES AL DIAGNÓSTICO Y AL FINAL DEL ESTUDIO CON ANOMALÍAS EN LA ECOGRAFÍA RENAL (N=46).	141
TABLA 14. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES QUE DESARROLLARON NEFROCALCINOSIS (N=7 PACIENTES).....	142
TABLA 15. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES CON HIPERCOGENICIDAD RENAL BILATERAL EN LA ECOGRAFÍA (N=7).....	145
TABLA 16. ANÁLISIS DE LOS FACTORES RELACIONADOS CON EL BAJO PESO A LARGO PLAZO (N=23)	149
TABLA 17. ANÁLISIS DE LOS FACTORES IMPLICADOS EN EL CRECIMIENTO A LARGO PLAZO (N=43 PACIENTES).....	155

TABLA 18. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA (N=11 PACIENTES)	158
TABLA 19. ANÁLISIS DE LOS FACTORES IMPLICADOS EN EL DESARROLLO DEL ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA A LARGO PLAZO (N=49 PACIENTES).....	162
TABLA 20. TRATAMIENTO AL DIAGNÓSTICO Y AL FINAL DEL ESTUDIO (N=49 PACIENTES).....	165
TABLA 21. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS SEGÚN EL FENOTIPO CLÍNICO DE PRESENTACIÓN (N=49 PACIENTES).....	169
TABLA 22. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LAS FAMILIAS CON MÁS DE UN MIEMBRO AFECTO DE SÍNDROME DE BARTTER TIPO III.....	176
TABLA 23. DESCRIPCIÓN DE LAS 14 VARIANTES HALLADAS EN EL GEN CLCNKB.	180
TABLA 24. VARIANTES HALLADAS EN LOS PACIENTES SEGÚN EL ORIGEN (N=88 ALELOS).....	183
TABLA 25. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES CON LA VARIANTE P.ALA204THR EN HOMOCIGOSIS (N=27 PACIENTES).....	188
TABLA 26. DISTRIBUCIÓN DE LOS TIPOS DE VARIANTES SEGÚN EL FENOTIPO CLÍNICO DE PRESENTACIÓN	191
TABLA 27. CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO. CARACTERÍSTICAS SEGÚN LA FUNCIÓN RESIDUAL DEL CANAL DEL CLORO CLC-KB (N=45 PACIENTES).....	192

ÍNDICE DE FIGURAS

FIG. 1 REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LA REABSORCIÓN DEL SODIO, AGUA Y OTROS ELECTROLITOS A LO LARGO DEL TÚBULO RENAL.	26
FIG. 2 PRINCIPALES MECANISMOS DE TRANSPORTE DE CLORO, SODIO Y OTROS ELECTROLITOS EN EL TÚBULO PROXIMAL.	30
FIG. 3 TRANSPORTE ÁCIDO-BASE EN EL TÚBULO PROXIMAL.....	32
FIG. 4 MECANISMO DE TRANSPORTE DEL CALCIO, DEL FÓSFORO Y DE LA GLUCOSA EN EL TÚBULO PROXIMAL.....	34
FIG. 5 REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL MECANISMO DE CONCENTRACIÓN CONTRACORRIENTE EN EL ASA DE HENLE.....	37
FIG. 6 PRINCIPALES TRANSPORTADORES Y LAS TUBULOPATÍAS PIERDE SAL EN EL SEGMENTO GRUESO DEL ASA ASCENDENTE DE HENLE.....	38
FIG. 7 EQUILIBRIO ÁCIDO-BASE EN EL ASA DE HENLE.....	43
FIG. 8 PRINCIPALES MECANISMOS DE TRANSPORTE DEL CLORURO SÓDICO Y DEL POTASIO EN EL TÚBULO CONTORNEADO DISTAL Y LAS PRINCIPALES TUBULOPATÍAS PIERDE SAL.	46
FIG. 9 PRINCIPALES MECANISMOS DE TRANSPORTE DEL CALCIO Y DEL MAGNESIO EN EL TÚBULO CONTORNEADO DISTAL.	49
FIG. 10 PRINCIPALES MECANISMOS DE TRANSPORTE EN LAS CÉLULAS PRINCIPALES DEL TÚBULO COLECTOR.	52
FIG. 11 PRINCIPALES MECANISMOS DE TRANSPORTE DE LAS CÉLULAS INTERCALADAS <i>ALPHA</i> DEL TÚBULO COLECTOR (A-IC).	54
FIG. 12 PRINCIPALES MECANISMOS DE TRANSPORTE DE LAS CÉLULAS INTERCALADAS <i>BETA</i> DEL TÚBULO COLECTOR (B-IC).	56
FIG. 13 EL APARATO YUXTAGLOMERULAR.....	62
FIG. 14 FUNCIÓN DE LA PROSTAGLANDINA E2 EN LOS TRASTORNOS DEL ASA DE HENLE.	63
FIG. 15 REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LA HIPERTROFIA COMPENSADORA DE LOS SEGMENTOS NO AFECTADOS EN CADA TIPO DE TUBULOPATÍA PIERDE SAL.	65
FIG. 16 REPRESENTACIÓN DE LA ESTRUCTURA DIMÉRICA DEL CANAL CLC-KB HALLADO EN EL ALGA <i>CYANIDIOSCHYZON MEROLAE</i>	82
FIG. 17 REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE UN MONÓMERO DEL CANAL DE CLORO CLC-KB.	83
FIG. 18 REPRESENTACIÓN DEL GEN <i>CLCNKB</i> EN EL CROMOSOMA 1.....	84

FIG. 19 . REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA EDAD DE LOS PACIENTES AL DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE LA ENFERMEDAD (N=49 PACIENTES).....	127
FIG. 20. SIGNOS CLÍNICOS AL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD Y SU FRECUENCIA EXPRESADA EN PORCENTAJES (N=49 PACIENTES).....	129
FIG. 21. COMPARACIÓN DEL PESO AL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD Y AL FINAL DEL ESTUDIO REPRESENTADO MEDIANTE DIAGRAMA DE CAJAS.	148
FIG. 22. COMPARACIÓN DE LA TALLA AL DIAGNÓSTICO Y AL FINAL DEL ESTUDIO MEDIANTE DIAGRAMA DE CAJAS.	151
FIG. 23. RELACIÓN ENTRE LA EDAD AL DIAGNÓSTICO Y EL DESARROLLO DE ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA REPRESENTADO MEDIANTE DIAGRAMA DE CAJAS.	163
FIG. 24. PEDIGRÍ DE LAS FAMILIAS EN LOS QUE HAY MÁS DE UN MIEMBRO AFECTO DE SÍNDROME DE BARTTER TIPO III. CON UNA FLECHA SE SEÑALAN LOS CASOS ÍNDICES DE CADA FAMILIA.....	175
FIG. 25. LOCALIZACIÓN DE LAS VARIANTES HALLADAS EN EL GEN <i>CLCNKB</i> EN NUESTRA COHORTE N=14 VARIANTES).	181
FIG. 26. DISTRIBUCIÓN DE LOS TIPOS DE VARIANTES EN EL GEN <i>CLCNKB</i>.	182

RESUMEN

Introducción: El Síndrome de Bartter Tipo III o Síndrome de Bartter Clásico es una tubulopatía pierde sal de herencia autosómica recesiva secundaria a variantes patogénicas en el gen *CLCNKB*. Se caracteriza por una amplia heterogeneidad en el fenotipo clínico de presentación. Aunque generalmente es una enfermedad con un curso benigno, un porcentaje de pacientes presentan mal pronóstico con progresión hacia una enfermedad renal crónica.

Objetivos: Describir la evolución a largo plazo de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, así como analizar los factores que podrían estar relacionados con un peor pronóstico a largo plazo.

Población y métodos: Se estudió una cohorte de 49 pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III procedentes de 44 familias. Se describieron y se compararon las variables clínicas al diagnóstico de la enfermedad y a largo plazo. Así mismo, se analizaron las variables que podrían estar relacionados con un peor pronóstico. Por último, se realizó una descripción de las características moleculares de cada paciente y se estudió la correlación genotipo-fenotipo.

Resultados: La mayoría de los pacientes eran españoles y se diagnosticaron antes de los 2 años de edad. Más de la mitad presentaron un fenotipo clínico de Síndrome de Bartter Clásico, alrededor de un tercio un fenotipo similar al Síndrome de Bartter Antenatal y sólo un 12% un fenotipo similar al Síndrome de Gitelman al diagnóstico. Sin embargo, tras una mediana de seguimiento de 12 años, un tercio de los pacientes presentaban un fenotipo similar al Síndrome de Gitelman con hipomagnesemia y/o hipocalciuria. Así mismo, cerca de un cuarto de los pacientes desarrolló enfermedad renal crónica y un 15% presentó nefrocalcinosis a largo plazo. Los pacientes que desarrollaron enfermedad renal crónica a largo plazo se diagnosticaron más tarde y presentaron una hipokalemia y una alcalosis metabólica más severa al diagnóstico. Así mismo, aunque la mayoría de pacientes presentaron un crecimiento normal a largo plazo, los pacientes con retraso ponderoestatural al final del estudio presentaron una hipokalemia y una alcalosis metabólica más severa al diagnóstico. El tipo de variante más frecuente en el gen *CLCNKB* fue la *missense*, la mayoría de los pacientes presentaron la variante p.Ala204Thr en homocigosis. No se halló ninguna correlación genotipo-fenotipo.

Conclusiones: En el Síndrome de Bartter Tipo III existe una amplia variabilidad tanto en la presentación clínica como en la evolución a largo plazo. El diagnóstico precoz, así como un manejo adecuado de las alteraciones hidroelectrolíticas, son importantes para evitar las complicaciones a largo plazo del Síndrome de Bartter Tipo III, como el deterioro de la función renal o el retraso ponderoestatural.

I. INTRODUCCIÓN

1. MANEJO TUBULAR DEL AGUA Y ELECTROLITOS

El riñón tiene un papel importante en el mantenimiento del homeostasis hidroeléctrica y ácido-base del organismo. Un riñón adulto filtra aproximadamente 150 litros de agua al día y alrededor de 20.000 mmol de sodio (equivalente a 1,2 kg de sal) para reabsorberlo prácticamente en su totalidad a la circulación sanguínea. De manera fisiológica, más del 99% del sodio y agua filtrado por el glomérulo se reabsorbe en el túbulo mediante distintos transportadores. Además, el transporte activo del sodio es el que arrastra de manera pasiva el agua. Todo ello requiere en total un alto consumo de energía. El riñón, junto con el corazón, es uno de los órganos que requiere un alto consumo metabólico para realizar su función, aproximadamente 440 kcal/kg/día, el doble del gasto energético que requiere el cerebro, siendo por lo tanto un órgano de gran susceptibilidad en situaciones de isquemia (1-3).

El túbulo está dividido en cuatro segmentos principales: **1)** El túbulo proximal, **2)** El asa de Henle, que se divide en dos segmentos: a) El segmento descendente fino, b) El segmento ascendente donde pueden distinguirse a su vez dos segmentos, el segmento fino ascendente y el segmento grueso ascendente, **3)** El túbulo contorneado distal, y **4)** El túbulo colector.

En la Figura 1 se representa la reabsorción de los principales electrolitos en los distintos segmentos del túbulo. El sodio se reabsorbe en todos los segmentos del túbulo y participa en muchas ocasiones en el transporte de otros solutos mediante mecanismos de cotransporte o de antiporte. La gran mayoría del sodio filtrado por el glomérulo se reabsorbe en el túbulo proximal (60-70%), seguido del segmento grueso del asa ascendente de Henle (20%), del túbulo contorneado distal (5-10%) y del túbulo colector (5-10%). El agua se reabsorbe en todos los segmentos salvo en el segmento grueso del asa ascendente de Henle y en el túbulo contorneado distal. Finalmente, se elimina por orina el 1% del agua y el 1% del cloruro sódico filtrados por el glomérulo (4). La alteración en alguno de los transportadores de sodio a lo largo del túbulo dará lugar a una tubulopatía pierde sal.

A continuación, se explican los principales mecanismos de transporte del sodio, del agua y de otros electrolitos en el túbulo. Así mismo, se mencionan las principales tubulopatías pierde sal asociadas a la disfunción de los transportadores de sodio en cada segmento del túbulo.

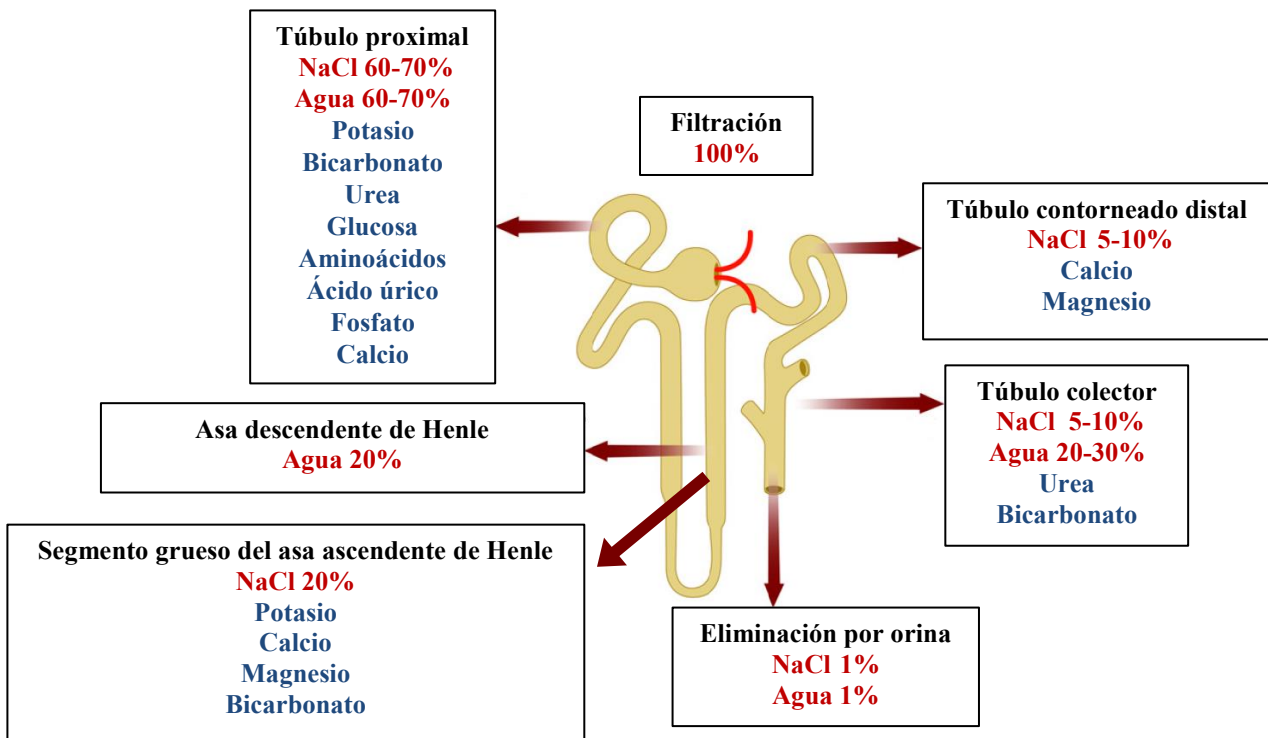


Fig. 1 Representación esquemática de la reabsorción del sodio, agua y otros electrolitos a lo largo del túbulo renal.

En el túbulo proximal se reabsorben la mayoría de los electrolitos filtrados por el glomérulo. La mayoría del sodio se reabsorbe en el túbulo proximal (60-70%), seguido en orden por el segmento grueso del asa ascendente de Henle, el túbulo contorneado distal y el túbulo colector. El 60-70% del agua filtrada se reabsorbe en el túbulo proximal seguido por el asa descendente de Henle y el túbulo colector donde se reabsorbe el 20-30% del agua filtrada. El segmento grueso del asa ascendente de Henle y el túbulo contorneado distal son impermeables al agua. Finalmente, en la orina definitiva, solamente se elimina el 1% del sodio y del agua filtrados por el glomérulo. Adaptado de Kleta y colaboradores (5).

1.1. Túbulo proximal

El túbulo proximal tiene un papel importante en la homeostasis hidroelectrolítica, ácido-base y nutricional. En condiciones normales, en este segmento se reabsorben el 60-70% del sodio y del agua, la gran mayoría del bicarbonato, y de otros solutos y nutrientes filtrados por el glomérulo como la glucosa, los aminoácidos, el calcio, el magnesio, el fosfato, el ácido úrico y el citrato (6, 7). Así mismo, se realiza la secreción de algunos solutos a la luz tubular y se llevan a cabo algunas de las funciones metabólicas del riñón y la producción de hormonas como la activación de la 25-hidroxi-vitamina D a 1,25-dihidroxi-vitamina D o la inactivación de ambas mediante la enzima 24-hidroxilasa. Además, se realiza la gluconeogénesis de forma paralela al hígado, y se producen algunas moléculas como la eritropoyetina (8-12). En Tabla 1 se describen las principales tubulopatías pierde sal del túbulo proximal.

a) Transporte del cloruro sódico en el túbulo proximal

El sodio es el principal catión del espacio extracelular y generalmente se transporta unido a un anión. Aunque normalmente se transporta unido al cloro, también se une a otras moléculas como la glucosa, el fósforo o el bicarbonato, siendo este último muy importante tanto en el balance hídrico como en la homeostasis ácido-base del organismo. A diferencia del asa de Henle y del túbulo contorneado distal, en el túbulo proximal no existen transportadores específicos de cloruro sódico. Ambas moléculas entran por separado en la célula mediante distintos transportadores empleando mecanismos activos en cotransporte junto a otros solutos, o en antiporte intercambiándose con otros solutos. En la Figura 2 se muestran los principales transportadores del sodio y del cloro del túbulo proximal.

El transporte del sodio en el túbulo proximal está determinado por la bomba Na/K ATPasa (del inglés, *adenosine triphosphatase*). Es el principal transportador de sodio que consume adenosin trifosfato y está presente tanto en el túbulo proximal como en el resto de los segmentos del túbulo renal. Está situada en la membrana basolateral y permite la salida activa de tres moléculas de sodio al torrente sanguíneo en intercambio con dos moléculas de potasio.

De esta manera, se establece el gradiente electroquímico adecuado con bajo voltaje intracelular con -70 mV (miliVoltios) con concentraciones bajas de sodio facilitando la entrada de distintos solutos a través de la membrana apical.

La mayor parte del sodio en la membrana apical del túbulo proximal es reabsorbido por el intercambiador apical Na/H NHE3 (del inglés, *Sodium and Hydrogen Exchanger isoform 3*). El NHE3 pertenece a la familia de los transportadores NHE formado por 9 isoformas (NHE 1-9) que se expresan en las células epiteliales del riñón y del intestino (13, 14). Aparte del NHE3, el transportador NHE8 también se expresa en este segmento. En situaciones en las que existe una disfunción del NHE3 o una inmadurez del NHE3, como en los recién nacidos, el NHE8 compensa el transporte del sodio (15, 16). El NHE3 está codificado por el gen *SLC9A3* (del inglés *Solute Carrier Family 9 Member 3 gene*) y se expresa de manera abundante en el epitelio del túbulo proximal, y de manera menos extensa en el asa descendente y ascendente de Henle y en las células epiteliales del intestino (15, 17-19). Las variantes patogénicas en este gen dan lugar a la Diarrea Sódica Congénita (20).

La entrada de sodio a través de la membrana apical genera un gradiente electroquímico lumen-negativo respecto al intersticio estimulando la reabsorción del cloro vía paracelular entre las células epiteliales, o vía transcelular principalmente en antiporte con una molécula base a través del canal CFEX (del inglés, *Chloride Formate Exchanger*). Por otro lado, el sodio también es reabsorbido en cotransporte con el sulfato a través transportador NaS-1 (del inglés, *Sodium Sulfate Cotransporter 1*). Este último, precisa de dos intercambiadores de aniones para llevar a cabo su función. Así mismo, el transporte activo del sodio a través del epitelio del túbulo proximal genera un gradiente osmótico transepitelial que permite el transporte pasivo de agua a través de los canales Aquaporina Tipo 1 presentes tanto en la membrana apical como basolateral, siempre manteniendo un fluido intratubular isoosmótico (300 mOsm/kg) respecto al plasma (21-24).

Tabla 1 Principales tubulopatías pierde sal en el túbulo proximal.

Enfermedad	Gen	Proteína	H	Clínica	OMIM	Ref.
Diarrea Sódica Congénita	<i>SLC9A3</i>	NHE3 Na/H	AR	Diarrea, acidosis metabólica leve y natriuresis elevada	616868	(20)
Acidosis Tubular Proximal con Manifestaciones Oculares	<i>SLC4A4</i>	NBCe1A Na/HCO ₃	AR	Acidosis metabólica, manifestaciones oculares, retraso mental	604278	(25)
Osteopetrosis con Acidosis Tubular Renal	<i>CA2</i>	CAII	AR	Osteopetrosis, calcificaciones cerebrales, acidosis metabólica	259730	(26)
Raquitismo Hipofosfatémico e Hipercalciuria	<i>SLC34A3</i>	NaPi-IIc Na-P	AR/AD	Hipercalciuria, nefrocalcinosis, hipofosfatemia	241530	(27)
S. Renotubular de Fanconi 1	<i>GATM</i>	Amidino-transferasa	AD	Litiasis, disfunción del TP, ERC	134600	(28)
S. Renotubular de Fanconi 2 (Hipercalcemia Infantil-2)	<i>SLC34A1</i>	NaPi-IIa Na-P	AR	Hipercalcemia, hipercalciuria, nefrocalcinosis (+/- disfunción del TP)	13388 616963	(31, 32)
S. Renotubular Fanconi 3	<i>EHHADH</i>	EHHAD	AD	Nefrocalcinosis, no ERC, disfunción del TP	615605	(29- 32)
S. Renotubular Fanconi 4	<i>HNF4A</i>	HNF4A	AD	Hiperinsulinismo congénito, hipoglucemia neonatal, MODY, litiasis, disfunción del TP	600281	(33, 34)
Glucosuria Renal	<i>SLC5A2</i>	SGLT2 Na-Gluc	AR/AD	Glucosuria	233100	(35)

S: Síndrome. H: Patrón de herencia. AD: autosómico dominante. AR: autosómico recesivo. MODY: del acrónimo en inglés *Maturity Onset Diabete of the Young*. ERC: enfermedad renal crónica. TP: túbulo proximal.

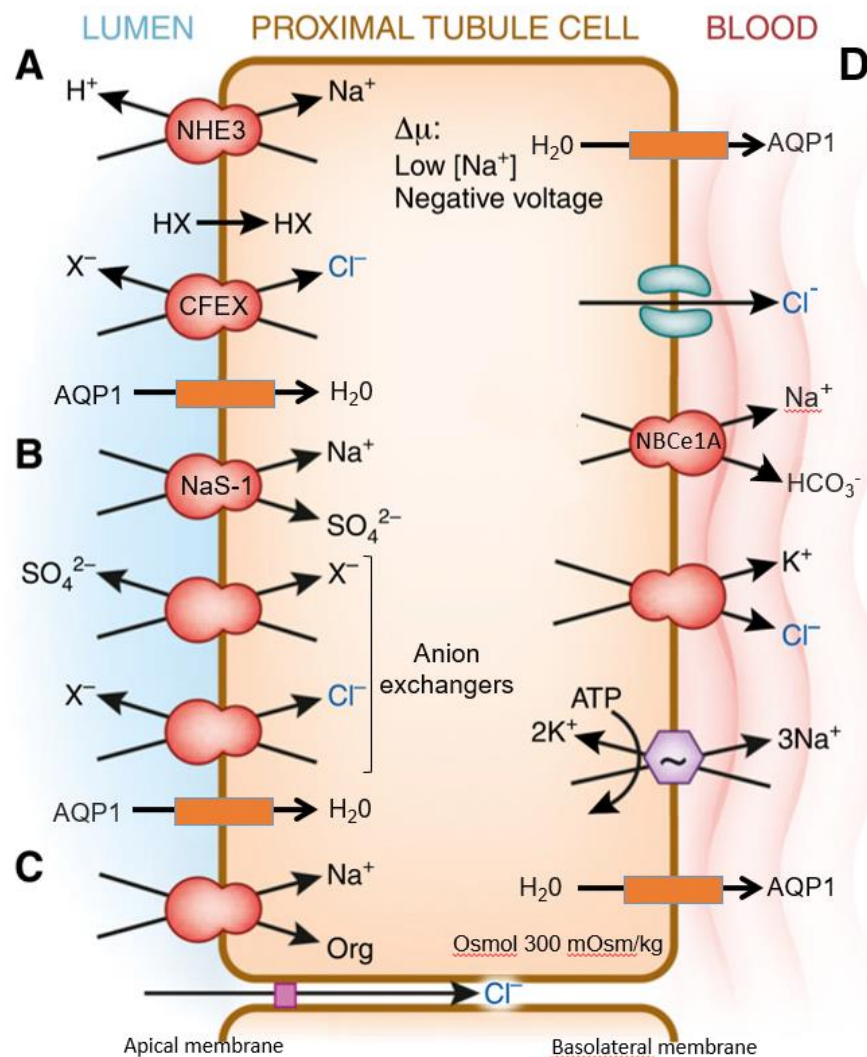


Fig. 2. Principales mecanismos de transporte de cloro, sodio y otros electrolitos en el túbulo proximal.

El principal estímulo para la reabsorción apical de sodio es su baja concentración en el espacio intracelular generada por la bomba Na/K ATPasa. **A)** El intercambiador Na/H NHE3 es el principal transportador de sodio en este segmento. El cloro entra en la célula en intercambio con una molécula base a través del intercambiador CFEX. La base secretada a la luz se une al hidrogenión (HX) y vuelve a entrar en la célula permitiendo el reciclaje del conjunto ácido-base, **B)** El sodio entra en la célula en cotransporte con el sulfato (SO_4^{2-}) a través del transportador NaS-1. Para su correcta función, precisa dos intercambiadores de aniones (*anion exchangers*), **C)** El sodio entra en la célula en cotransporte con otro soluto orgánico. Por otro lado, la carga electronegativa generada en la luz tubular debido a la entrada de sodio en la célula permite el transporte pasivo paracelular del cloro, **D)** El sodio intracelular se reabsorbe hacia el torrente sanguíneo a través de la membrana basolateral en intercambio con el potasio mediante la bomba Na/K ATPasa y el canal NBCe1A en cotransporte con el bicarbonato (HCO_3^-). Los mecanismos de reabsorción del cloro en la membrana basolateral no están bien definidos, se cree que existen distintos canales de cloro o cotransportadores que reabsorben el cloro en cotransporte con el potasio. Tanto en la membrana apical como en la basolateral se expresan los canales de agua Aquaporina Tipo 1 (AQP1) permitiendo mantener el fluido intratubular isoosmótico respecto al plasma (300 mOsm/kg). Modificado de Curthoys (21).

La regulación de la reabsorción de cloruro sódico en el túbulo proximal permite mantener el equilibrio del espacio extracelular. Algunas hormonas como angiotensina II, la endotelina o el estímulo alfa-adrenérgico estimulan la actividad de la bomba de Na/K ATPasa y otras, como la dopamina, inhiben su actividad. La angiotensina II, a través de su receptor AT1 (del inglés *Angiotensin II Receptor Type 1*), regula la actividad esta bomba dependiendo de la presión arterial sistémica y de la ingesta de sal en la dieta (36-38).

b) El equilibrio ácido-base en el túbulo proximal

Además del transporte del cloruro sódico, el túbulo proximal participa en el equilibrio ácido-base del organismo mediante la secreción de hidrogeniones a la luz tubular a través de la membrana apical y la reabsorción de bicarbonato hacia el torrente sanguíneo en la membrana basolateral. En este segmento del túbulo se reabsorbe alrededor del 80% del bicarbonato filtrado por el glomérulo (21, 39, 40). Además, el bicarbonato, junto con el amonio, el citrato y el dihidrógeno fosfato, es el principal mecanismo *buffer* del organismo que evita la acidificación sanguínea secundaria a los ácidos generados por la dieta (41-43). En la Figura 3 se muestran los principales transportadores del túbulo proximal y los *buffers* que participan en la homeostasis ácido-base.

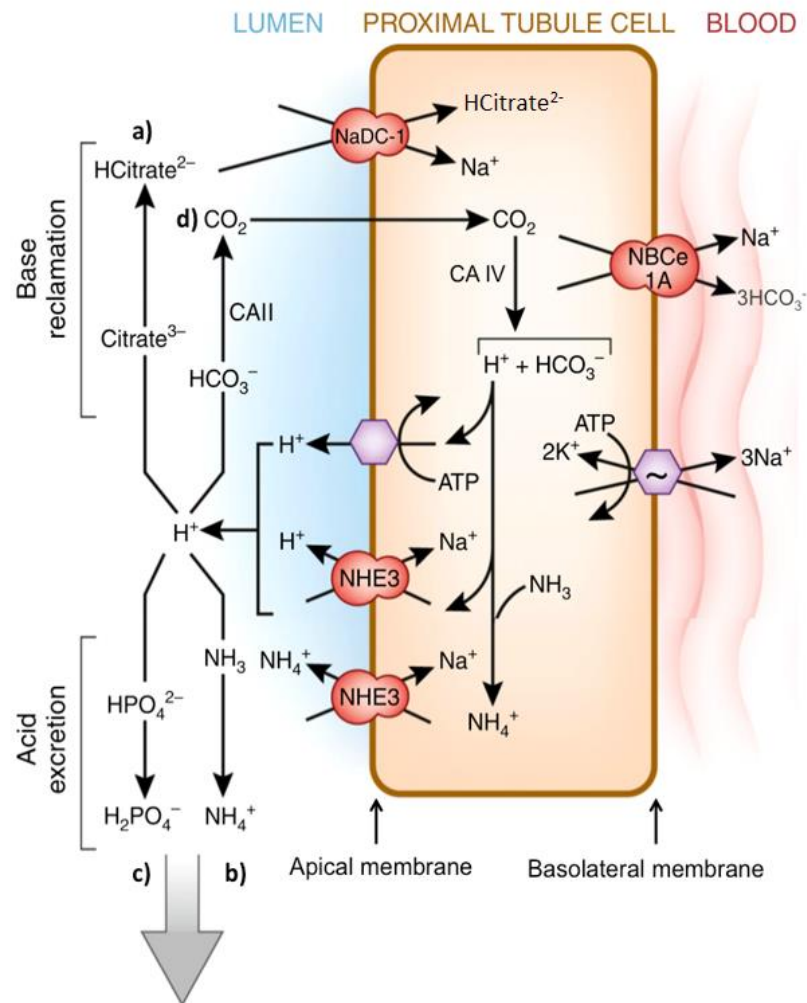


Fig. 3. Transporte ácido-base en el túbulo proximal.

La secreción de los hidrogeniones a la luz tubular se realiza mediante los transportadores NHE3 y la bomba H ATPasa. En la luz tubular, existen cuatro principales mecanismos *buffers* que permiten la neutralización de los hidrogeniones: **a)** Se une al citrato trivalente (Citrato³⁻) para convertirlo en divalente (Hcitrato²⁻) que se introduce en la célula en cotransporte con el sodio por el transportador NaDC-1 **b)** El hidrogenión se une al amoníaco (NH₃) formando una molécula de amonio (NH₄⁺) que es eliminado por orina **c)** Formación del fosfato monovalente (H₂PO₄⁻) que es eliminado por orina **d)** Formación de dióxido de carbono (CO₂) a través de la enzima anhidrasa carbónica II (CAII). El CO₂ entra en la célula, se une al agua y gracias a la enzima anhidrasa carbónica IV (CAIV) se convierte en un hidrogenión y en una molécula de bicarbonato (H + HCO₃⁻). El hidrogenión es secretado a la luz tubular y el amonio generado intracelularmente gracias a la unión del amoníaco y el hidrogenión, es eliminado en intercambio por el sodio a través del transportador NHE3. Por otro lado, el bicarbonato intracelular es reabsorbido al torrente sanguíneo a través del cotransportador NBCe1A junto al sodio. Modificado de Curthoys (21)

La mayoría de los hidrogeniones se secretan al lumen tubular de manera neutra a través del intercambiador Na/H NHE3 en la membrana apical que intercambia una molécula de sodio por un hidrogenión. Así mismo, el NHE3 también participa en la secreción del amonio generado dentro de la célula. Además, en la membrana apical también existe la bomba H ATPasa que secreta hidrogeniones a la luz tubular. Una vez secretado el hidrogenión a través de un transportador u otro, se une a distintas moléculas en el lumen tubular que son los principales *buffers* del ácido del organismo: **a)** El hidrogenión se une al citrato convirtiendo el citrato trivalente en divalente, y este último es transportado al espacio intracelular mediante el transportador NaDC-1 (del inglés, *Sodium Dicarboxylate Cotransporter 1*) situado en la membrana apical, **b)** El hidrogenión secretado en la luz tubular se une al amoníaco y se convierte en una molécula de amonio que será eliminado por orina, **c)** El hidrogenión se une al fosfato divalente convirtiéndolo en fosfato monovalente, y este último, ante la imposibilidad de ser reabsorbido a través del epitelio, se elimina en orina aumentando la fosfaturia, **d)** El bicarbonato filtrado por el glomérulo, también se une en el luz tubular al hidrogenión generando dióxido de carbono mediante la acción de la anhidrasa carbónica II codificada por el gen *CA2* (del inglés *Carbonic Anhydrase II gene*). El dióxido de carbono entra en la célula epitelial, y al unirse al agua, da lugar a un hidrogenión y a una molécula de bicarbonato gracias a la acción de la enzima anhidrasa carbónica IV. De este modo, se iniciará el proceso otra vez, secretando el hidrogenión a la luz tubular través de la membrana apical. La molécula de bicarbonato generada dentro de la célula se reabsorbe al torrente sanguíneo en cotransporte con el sodio mediante el cotransportador NBCe1A (del inglés, *Electrogenic Sodium Bicarbonate Cotransporter 1A*) codificado por el gen *SLC4A4* (del inglés, *Solute Carrier Family 4 Member 4 gene*) (7, 19, 21, 42-44). Las variantes en el gen *SLC4A4* se dan lugar a la Acidosis Tubular Renal Proximal con Manifestaciones Oculares y las variantes en el gen *CA2* a la Osteopetrosis con Acidosis Tubular Renal.

a) Transporte de otros solutos en el túbulo proximal

En el túbulo proximal se reabsorbe prácticamente la totalidad del fósforo, de la glucosa y alrededor del 65-70% del calcio filtrado por el glomérulo. El sodio participa en la reabsorción de estos solutos. En la Figura 4 se representan los principales transportadores de fosforo, calcio y glucosa de este segmento.

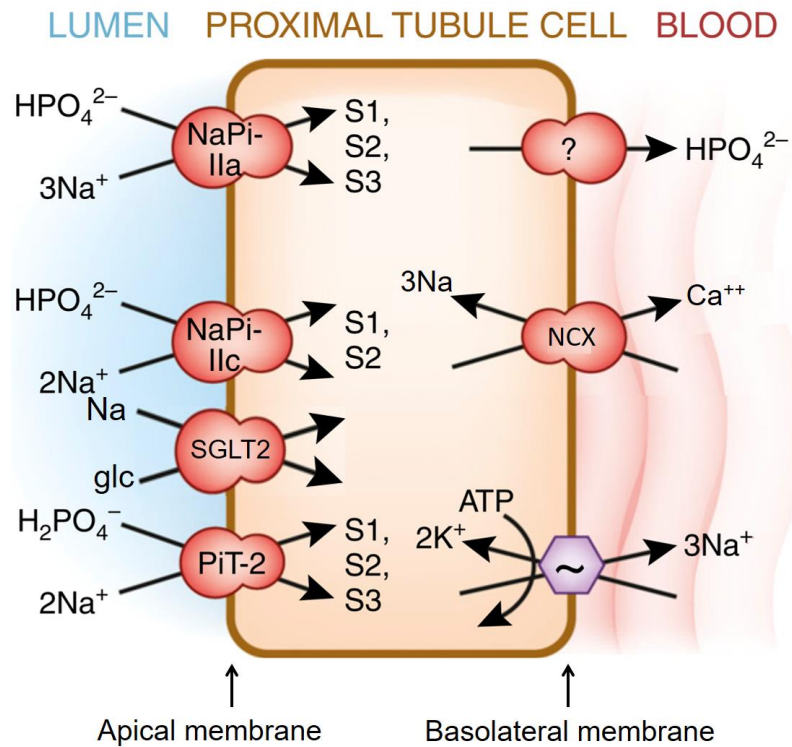


Fig. 4. Mecanismo de transporte del calcio, del fósforo y de la glucosa en el túbulo proximal.

Se reabsorbe prácticamente la totalidad del fósforo y alrededor del 65-70% del calcio filtrado por el glomérulo. El sodio entra en la célula en cotransporte con el fósforo a través de los transportadores NaPi-IIa, NaPi-IIc y PiT-2. El mecanismo de transporte basolateral del fósforo no está definido. Por otro lado, el calcio intracelular se reabsorbe hacia el torrente sanguíneo en intercambio por el sodio en el transportador NCX en la membrana basolateral. En este segmento se reabsorbe el 99% de glucosa filtrada a través de los transportadores SGLT1 (no mostrado en esta figura) y SGLT2. Ambos realizan el transporte de glucosa en cotransporte con el sodio. Modificado de Curthoys (21).

En la membrana apical existen tres cotransportadores de sodio y de fósforo: **1)** NaPi-IIa (del inglés *Sodium-Inorganic Phosphate co-transporter Type IIa*) codificado por el gen *SLC34A1* (del inglés, *Solute Carrier Family 34 Member 1 gene*), **2)** NaPi-IIc (del inglés *Sodium-inorganic Phosphate co-transporter Type IIc*) codificado por el gen *SLC34A3* (del inglés, *Solute Carrier Family 34 Member 3 gene*), **3)** PiT-2 (del inglés, *Inorganic Phosphate Transporter 2*) codificado por el gen *SLC20A2* (del inglés, *Solute Carrier Family 20 Member 2 gene*). Las variantes patogénicas en el gen *SLC34A3* dan lugar a un Raquitismo Hipofosfatémico e Hiper calciuria y las variantes patogénicas en el gen *SLC34A1* dan lugar al Síndrome Renotubular de Fanconi 2 o Hiper calcemia Infantil-2.

El Síndrome Renotubular de Fanconi engloba a un grupo de enfermedades que tienen como característica común la disfunción global del túbulo proximal. Debido a la alta demanda de energía de este segmento para llevar a cabo sus funciones, este síndrome suele ser secundario a trastornos primarios que presentan déficit de energía como las cistopatías mitocondriales (45). Sin embargo, también puede ser debido a defectos primarios del túbulo proximal. Actualmente se distinguen 4 tipos de Síndrome Renotubular de Fanconi primario. Concretamente, el Síndrome Renotubular de Fanconi Tipo 2, comentando anteriormente, es debido a variantes patogénicas en el gen *SLC34A1* que expresa el cotransportador de sodio y fósforo NaPi-IIa en la membrana apical. Sin embargo, no todos los pacientes con variantes patogénicas en este gen presentan disfunción del túbulo proximal, por lo que su asociación con el Síndrome Renotubular de Fanconi está cuestionada y a esta entidad también se le denomina Hipercalcemia Infantil-2. En el Síndrome Renotubular de Fanconi Tipo 1, Tipo 3 y Tipo 4, aunque el defecto primario no se encuentre en los transportadores que participa el sodio, se encuentra en el túbulo proximal dando lugar a una disfunción global de este segmento (27, 46, 47).

En el túbulo proximal también se expresa el intercambiador Na/Ca NCX (del inglés, *Sodium-Calcium Exchanger*) en la membrana basolateral que reabsorbe una molécula de calcio en intercambio por tres moléculas de sodio y presentan un rol importante en la regulación del transporte del sodio (48-52). Así mismo, en este segmento también se reabsorbe el 99% de la glucosa filtrada por el glomérulo mediante dos transportadores que reabsorben la glucosa en cotransporte con una o dos moléculas de sodio en la membrana apical: **1)** El cotransportador SGLT1 (del inglés, *Sodium-Glucose Transporter 1*) codificado por el gen *SLC5A1* (del inglés, *Solute Carrier Family 5 Member 1*), **2)** El cotransportador SGLT2 (del inglés, *Sodium-Glucose Transporter 2*) codificado por el gen *SLC5A2* (del inglés, *Solute Carrier Family 5 Member 2*) (53-55). Los pacientes con mutaciones recesivas en el gen que codifica el cotransportador SGLT2 presentan Glucosuria Renal Aislada (56).

1.2. Asa de Henle

Tras pasar por el túbulo proximal, la orina continúa por el asa de Henle. La rama descendente fina presenta una baja permeabilidad a iones y urea. Sin embargo, es muy permeable al agua

reabsorbiendo a través de los canales Aquaporina Tipo 1 el 20% del agua filtrada en el glomérulo. Por tanto, conforme el fluido tubular va descendiendo por la rama descendente, va perdiendo agua y acumulando iones, lo que hace que, al llegar a la horquilla del asa de Henle, la orina posea una elevada osmolalidad (1.200 mOsm/kg). Por el contrario, la rama ascendente de Henle es impermeable al agua. En el segmento fino se reabsorbe de manera pasiva cloruro sódico a favor de un gradiente de concentración y en el segmento grueso se realiza el transporte activo de iones hacia el intersticio. En este último segmento se reabsorbe aproximadamente el 20% del cloruro sódico y el 15% del bicarbonato filtrado por el glomérulo vía transcelular, y el 50-60% del magnesio y el 20% del calcio filtrado vía paracelular (57, 58). De esta manera, se consigue que la orina se diluya y cuando llega al túbulo contorneado distal sea hipoosmolar respecto al intersticio y al plasma, pasando de una osmolalidad de 1200 mOsm/kg en la horquilla de Henle a una osmolalidad de alrededor de 200 mOsm/kg. La diferencia de permeabilidad de agua y solutos entre el segmento ascendente y descendente del asa de Henle genera un mecanismo de concentración contracorriente manteniendo un gradiente osmótico intersticial entre la medula (1200 mOsm/kg) y la corteza renal (200 mOsm/kg). Este mecanismo permite el proceso de concentración de orina en el túbulo colector donde se reabsorbe agua a través de los canales Aquaporina Tipo 2 gracias a la acción de la hormona antidiurética (59, 60) (Figura 5).

En el asa ascendente de Henle, se reabsorbe alrededor del 20% del cloruro sódico filtrado por el glomérulo (61). En la Figura 6 se representan los principales transportadores y se señalan las principales tubulopatías pierde sal. El cotransportador Na-K-2Cl denominado NKCC2 (del inglés *Sodium-Potassium-2 Chloride cotransporter*) realiza el cotransporte de una molécula de sodio, una de potasio y dos de cloro simultáneamente (62-65). El gradiente electroquímico con bajo voltaje intracelular (-70 mV) y la baja concentración de sodio generada por la bomba Na/K ATPasa situada en la membrana basolateral, son esenciales para el buen funcionamiento de este cotransportador. Además, precisa la presencia de los tres iones al mismo tiempo para realizar el cotransporte (66, 67). En este cotransportador, es donde actúa el diurético furosemida y las variantes patogénicas en el gen *SLC12A1* dan lugar al Síndrome de Bartter Tipo I (68). En la Tabla 2 se muestran las principales tubulopatías pierde sal de este segmento.

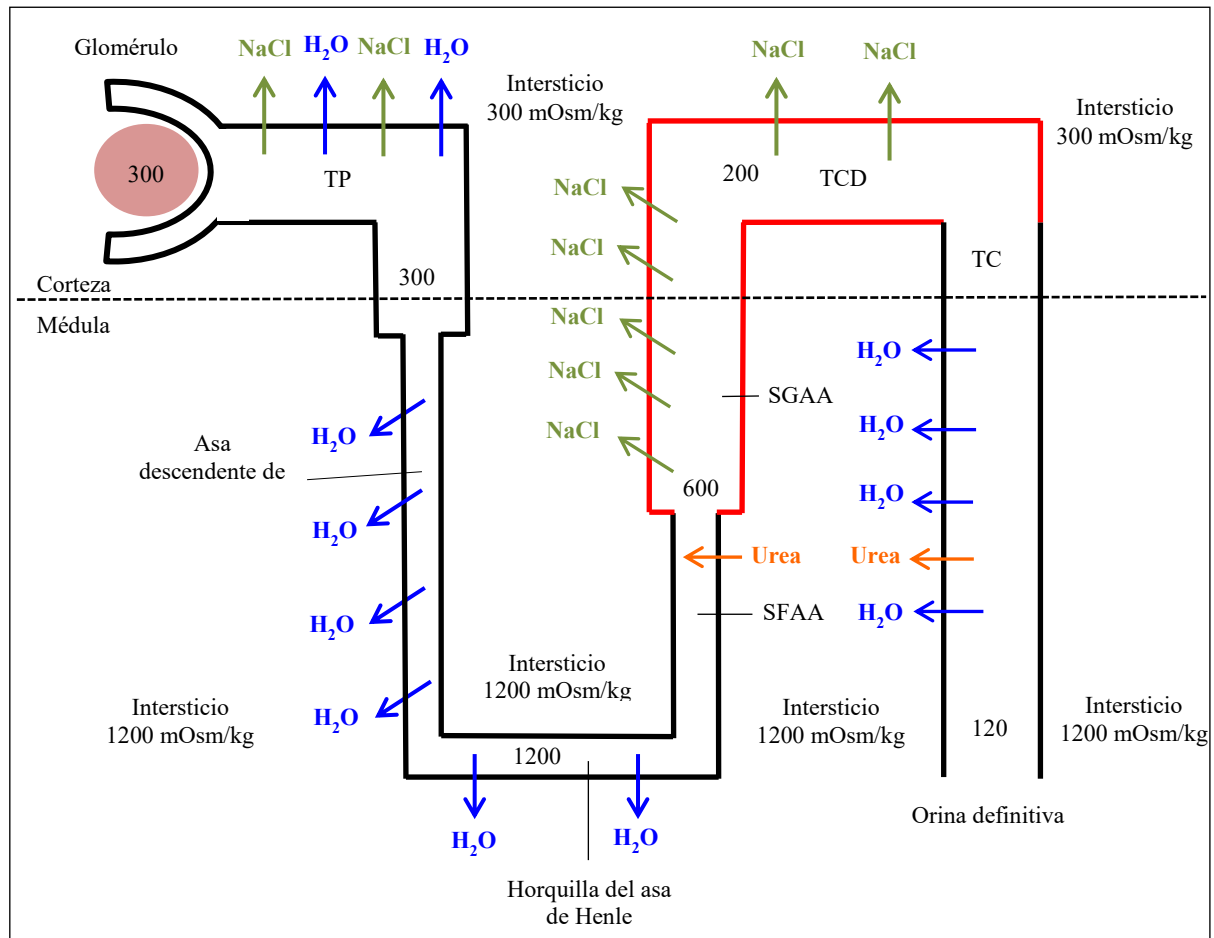


Fig. 5. Representación esquemática del mecanismo de concentración contracorriente en el asa de Henle.

Los segmentos representados con una línea roja son impermeables al agua. Los números dentro de los segmentos representan la osmolalidad urinaria (mOsm/kg). Entre los segmentos tubulares se encuentra el intersticio y se muestra la osmolalidad que presenta cada zona. La orina, tras ser filtrada por el glomérulo, pasa por los distintos segmentos del túbulo renal donde sufre variaciones de la osmolalidad para la formación de la orina definitiva en el túbulo colector (TC) que será hiperosmótica (1200 mOsm/kg) respecto al plasma. Para ello, es muy importante que exista un gradiente osmolar corticomedular en el intersticio con una médula hiperosmolar (1200 mOsm/kg) respecto a la corteza (300 mOsm/kg), siendo esta última isoosmótica respecto al plasma. Este gradiente se consigue gracias a dos mecanismos: **1)** Las diferencias en la permeabilidad de agua y solutos de cada segmento tubular, **2)** El mecanismo de concentración contracorriente en el asa de Henle: el flujo urinario se mueve de manera paralela, pero en sentido contrario, entre el asa descendente y ascendente de Henle. En el asa descendente, gracias a su capacidad de reabsorción de agua sin reabsorción de solutos, se produce un aumento de concentración urinaria alcanzando 1200 mOsm/kg en la horquilla. A medida que sube la orina por el asa ascendente de Henle se va diluyendo gracias a su impermeabilidad al agua, llegando al túbulo contorneado distal una orina hipoosmótica (200 mOsm/kg) respecto al plasma. La salida de cloruro sódico sin agua de manera activa al intersticio medular en el segmento grueso de asa ascendente de Henle (SGAAH) y, de manera menos importante, la salida pasiva de cloruro sódico en el segmento fino del asa ascendente de Henle (SFAAH), hace que el intersticio se mantenga hipertónico. Por consiguiente, en el TC se reabsorberá agua hacia el intersticio bajo la acción de la hormona antidiurética. Este hecho hace que aumente la concentración de urea en el TC y se reabsorba al intersticio por difusión. Igualmente, la urea del intersticio gracias a la diferencia de concentración respecto a la luz tubular del asa de Henle, entrará en el SFAAH. A este fenómeno se le denomina recirculación de la urea que contribuye en el mantenimiento del intersticio medular hipertónico. De forma paralela, esta hipertonidad intersticial va a permitir que en el segmento descendente del asa de Henle se reabsorba agua.

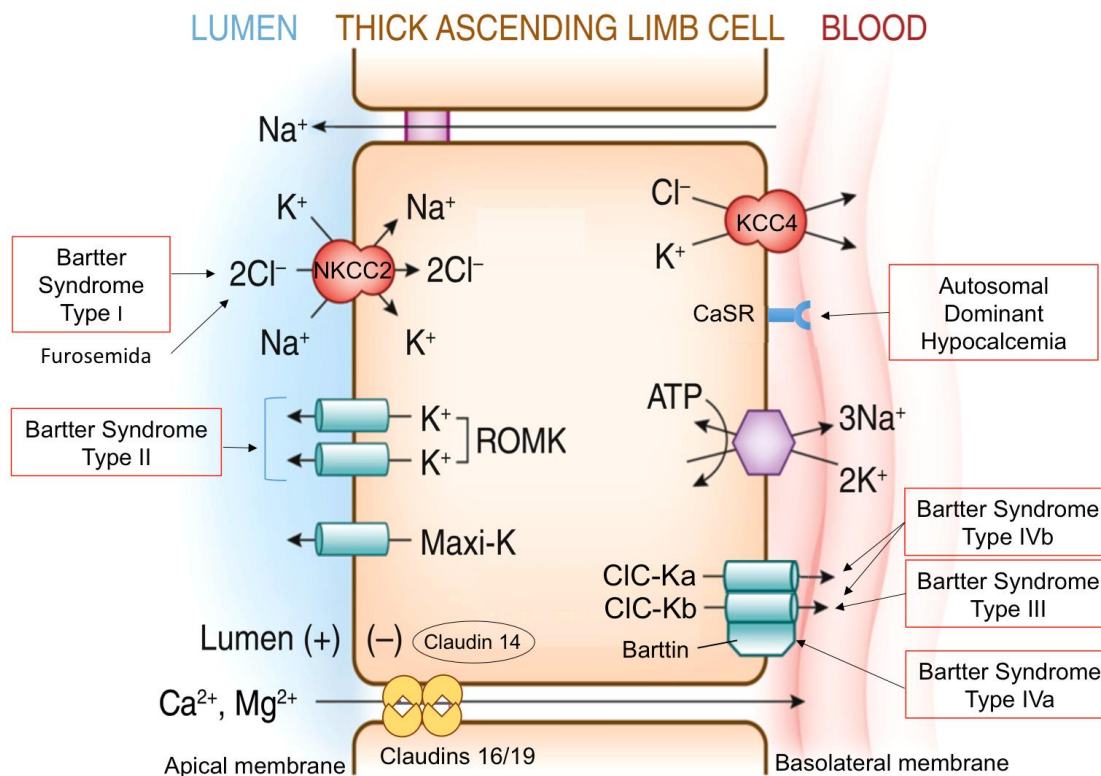


Fig. 6. Principales transportadores y las tubulopatías pierde sal en el segmento grueso del asa ascendente de Henle

El gradiente electroquímico con bajo voltaje intracelular generado por la bomba Na/K ATPasa permite realizar el cotransporte de sodio, potasio y cloro a través del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 en la membrana apical. En este transportador es donde actúa el diurético furosemida y su disfunción da lugar al Síndrome de Bartter Tipo I. Así mismo, el potasio que entra en la célula es reciclado a la luz tubular mediante los canales de potasio ROMK y maxi-K. Además, el reciclaje del potasio genera el gradiente transepitelial lumen-positivo necesario para la función del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2. La disfunción de los canales ROMK da lugar al Síndrome de Bartter Tipo II. Por otro lado, el cloro intracelular se reabsorbe al torrente sanguíneo por los canales de cloro CIC-Ka y CIC-Kb, y mediante el cotransportador Cl-K KCC4. La subunidad Barttina es necesaria para que la función de los canales CIC-Ka y CIC-Kb sea adecuada. La alteración en la función del canal CIC-Kb da lugar al Síndrome de Bartter Tipo III, la alteración de la función de la Barttina dará lugar al Síndrome de Bartter Tipo IVa y la disfunción de ambos canales de cloro CIC-Ka y CIC-Kb da lugar al Síndrome de Bartter Tipo IVb. Entre las células epiteliales, se sitúan los canales paracelulares formados por las Claudinas 16 y 19 que permiten la reabsorción de calcio y magnesio vía paracelular. Para ello, es necesario el gradiente transepitelial lumen positivo generado por el reciclaje del potasio a través del ROMK, el transporte paracelular de retorno a la luz tubular del sodio y la salida al torrente sanguíneo del cloro por el canal CIC-Kb. En la membrana basolateral de la célula epitelial se expresa el Receptor Sensor del Calcio (CaSR) que regula el transporte paracelular del calcio y magnesio. En situaciones de hipercalcemia, el CaSR, a través de la Claudina 14, inhibe el canal de potasio ROMK, de manera que se pierde el gradiente transepitelial lumen positivo bloqueando el transporte paracelular de los cationes divalentes. Las variantes activantes en gen del CaSR dan lugar a la Hipocalcemia Autosómica Dominante. Modificado de Curthoys (21).

Tabla 2 Principales tubulopatías pierde sal en el asa de Henle.

Enfermedad	Gen	Proteína	H	Clínica	OMIM	Ref.
S. Bartter I	<i>SLC12A1</i>	NKCC2	AR	PH, prematuridad, nefrocalcinosis, alcalosis hipokalémica, iso/hipostenuria	601678	(68)
S. Bartter II	<i>KCNJ1</i>	ROMK	AR	PH, prematuridad, nefrocalcinosis, alcalosis hipokalémica, iso/hipostenuria, hiperkalemia transitoria en periodo neonatal	241200	(69)
S. Bartter III	<i>CLCNKB</i>	ClC-Kb	AR	Alcalosis hipokalémica e hipocloremia severa (+/-PH, prematuridad, nefrocalcinosis)	607364	(70)
S. Bartter IVa	<i>BSND</i>	Barttina	AR	PH, prematuridad, nefrocalcinosis, alcalosis hipokalémica severa,	602522	(71- 73)
S. Bartter IVb	<i>CLCNKA</i> <i>CLCNKB</i>	ClC-Ka ClC-Kb	AR	iso/hipostenuria, sordera neurosensorial		
S. Bartter V	<i>MAGED2</i>	MAGED2	XR	PH, prematuridad, nefrocalcinosis, alcalosis hipokalémica, iso/hipostenuria transitoria	300971	(74)
Hipocalcemia				Hipocalcemia,		
Autosómica	<i>CASR</i>	CaSR	AD	hipercalciuria +/- alcalosis hipokalémica	601198	(75)
Dominante						

S: Síndrome. H: Patrón de herencia. AD: autosómico dominante. AR: autosómico recesivo. XR: recesivo ligado al cromosoma X. PH: polihidramnios.

a) Transporte del cloruro sódico y potasio en el segmento grueso del asa de Henle

Al contrario del sodio y el cloro, aproximadamente el 90% del potasio transportado por el cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 es reciclado al lumen tubular a través de los canales de potasio ROMK (del inglés, *Renal Outer Medullary Potassium Channel*) también llamado Kir1.1 (del inglés, *Inwardly Rectifying Potassium Channel Subunit 1.1*), y los canales de potasio Maxi-K (del inglés, *large-conductance calcium-activated potassium channel*). El canal de potasio ROMK se codifica por el gen *KNCJ1* (del inglés, *Potassium Inwardly Rectifying Channel Subfamily J Member 1*) y es el responsable de más del 80% de la secreción de potasio en este segmento. El reciclaje del potasio genera el gradiente transepitelial lumen-positivo necesario para la reabsorción de cloruro sódico a través del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 y para el transporte paracelular de cationes en el segmento grueso del asa ascendente de Henle (67, 76-83). Las variantes patogénicas en el gen *KNCJ1* dan lugar al Síndrome de Bartter Tipo II (69).

Por otro lado, el cloro que entra en la célula a través del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 se reabsorbe hacia el torrente sanguíneo mediante tres tipos de canales: **1)** El cotransportador Cl-K KCC4 (del inglés, *Potassium Chloride Cotransporter 4*) que reabsorbe el cloro en cotransporte con el potasio y está codificado por el gen *SLC12A7* (del inglés, *solute Carrier Family 12 Member 7 gene*), **2)** El canal de cloro ClC-Ka (del inglés, *Chloride Voltage-Gated Channel Ka*) codificado por el gen *CLCNKA* (del inglés, *Chloride Voltage-Gated Channel Ka gene*), **3)** El canal de cloro ClC-Kb (del inglés, *Chloride Voltage-Gated Channel Kb*) codificado por el gen *CLCNKB* (del inglés, *Chloride Voltage-Gated Channel Kb gene*).

El canal de cloro ClC-Ka se expresa sobre todo en la membrana apical y basolateral del segmento fino ascendente y, en menor medida, en el segmento grueso del asa ascendente de Henle (84). Por el contrario, el ClC-Kb es el canal de cloro principal del segmento grueso ascendente, aunque también se expresa en el túbulo contorneado distal y en las células *alpha*-intercaladas del túbulo colector (85). La subunidad Barttina codificada por el gen *BSND* (del inglés *Bartter syndrome SensoriNeural Deafness gene*) es la subunidad coexpresada en ambos canales del cloro ClC-Ka y ClC-Kb, y es necesaria para el funcionamiento de los estos canales de cloro. Al igual que los canales de potasio, el correcto funcionamiento del transporte de cloro

es esencial para que la reabsorción de sodio a través del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 sea adecuada. Las variantes patogénicas en el gen *CLCNKB* son las responsables del Síndrome de Bartter Cásico o Tipo III (70). Por otro lado, las variantes patogénicas en ambos genes *CLCNKA* y *CLCNKB* dan lugar al Síndrome de Bartter Tipo IVb, y las variantes en el gen *BSND* al Síndrome de Bartter Tipo IVa (71-73).

El Síndrome de Bartter Tipo V es secundario a variantes del gen *MAGED2* (del inglés, *Melanoma Associated Antigen Family Member D2*) que codifica el antígeno D2. Este antígeno es una proteína expresada en el asa de Henle que participa exclusivamente en el periodo antenatal y neonatal en la regulación del transporte de sodio en el asa de Henle y en el túbulo contorneado distal hasta que el mecanismo de transporte de sodio madura. Por lo tanto, la alteración en la expresión de esta proteína dará lugar a un Síndrome de Bartter antenatal transitorio denominado Síndrome de Bartter Tipo V, similar al Síndrome de Bartter Tipo I y Tipo II (74).

b) Transporte de calcio y magnesio en el segmento grueso del asa ascendente de Henle

En el segmento grueso del asa de Henle se reabsorben al torrente sanguíneo vía paracelular aproximadamente el 50-60% del magnesio y el 20% del calcio filtrado por el glomérulo. Este transporte se realiza gracias al gradiente transepitelial de voltaje entre el lumen tubular (voltaje positivo) y el intersticio (voltaje negativo), generado por la secreción apical de potasio a través del canal ROMK a la luz tubular, y por la reabsorción basolateral de cloro por los canales ClC-Kb. Ambas acciones son secundarias a la reabsorción de sodio, cloro y potasio a través del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2. Así mismo, existe un flujo de retorno paracelular de sodio hacia la luz tubular que también forma parte de la regulación del transporte paracelular de calcio y magnesio. Las Claudinas son proteínas que se encuentran en las uniones de las células epiteliales formando poros. Concretamente en el asa de Henle las Claudinas 16 y 19 forman el canal paracelular, y la interacción entre ellas es imprescindible para la correcta regulación del transporte de cationes divalentes y otros iones como el sodio y cloro (86-89). Algunos autores opinan que, mientras que la Claudina 16 es un poro para la absorción de calcio, la Claudina 19 actúa de barrera para disminuir la entrada de aniones a la luz tubular lo que favorece la reabsorción de cationes divalentes (86-90).

Las variantes patogénicas en los genes que codifican las Claudinas 16 y 19 dan lugar a la Hipomagnesemia Familiar con Hipercalciuria y Nefrocalcinosis (88, 91). El proceso de reabsorción de calcio y magnesio vía paracelular en el segmento grueso del asa de Henle está estrechamente regulada por el receptor sensor del calcio (CaSR, del inglés *Calcium Sensor Receptor*) situado en la membrana basolateral, que monitoriza los niveles en plasma de calcio y regula su excreción urinaria. La Claudina 14 se expresa en las células epiteliales del asa de Henle, y en situaciones de hipercalcemia se activa el CaSR que, a través de esta Claudina, inhibe el canal de potasio ROMK, altera la función del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2, e interactúa con las Claudinas 16 y 19 bloqueando la reabsorción paracelular de calcio y de magnesio (92, 93). Las variantes activantes en el gen *CASR* dan lugar a la Hipocalcemia Autosómica Dominante, en la que además de hipocalcemia e hipercalciuria, los pacientes pueden presentar signos clínicos típicos del Síndrome de Bartter debido a la disfunción secundaria de los principales transportadores de cloruro sódico de este segmento (94, 95).

Por otro lado, la actividad de los transportadores del asa de Henle está regulada por una familia de proteínas denominada WNK (del inglés, *With-no-Lysine Kinase*). Concretamente el WNK tipo 3 se expresa en las uniones intercelulares del asa de Henle regulando la expresión del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 en la membrana apical (96).

c) Equilibrio ácido-base en el segmento grueso del asa ascendente de Henle

El segmento grueso del asa de Henle también participa en el mantenimiento equilibrio ácido-base del organismo. Aproximadamente el 15% del bicarbonato filtrado por el glomérulo es reabsorbido en este segmento y además, también participa en la reabsorción de amonio (59). En la Figura 7 se representan los principales transportadores de bicarbonato y de amonio en este segmento.

Dentro de la célula epitelial, la enzima anhidrasa carbónica IV, a partir de una molécula de agua y de dióxido de carbono, genera un hidrogenión y una molécula de bicarbonato ($\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{HCO}_3 + \text{H}$) (97). El bicarbonato se reabsorbe al torrente sanguíneo a través de la membrana basolateral mediante distintos transportadores como el intercambiador Cl/HCO_3 o

el cotransportador K-HCO₃ (98). Por otro lado, el hidrogenión se secreta a la luz tubular en intercambio por el sodio por el transportador NHE3 (99). El amonio generado en el túbulo proximal como mecanismo de tampón en respuesta a la acidosis metabólica, se reabsorbe en el segmento grueso del asa ascendente de Henle vía paracelular, o vía transcelular compitiendo con el potasio en la membrana apical en el cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 o en el canal de potasio ROMK (100, 101). En la membrana basolateral, el amonio compite con el potasio en la bomba Na/K ATPasa o se transporta en intercambio con el sodio en el intercambiador NHE4 (del inglés *Sodium and Hydrogen Exchanger isoform 4*) (102).

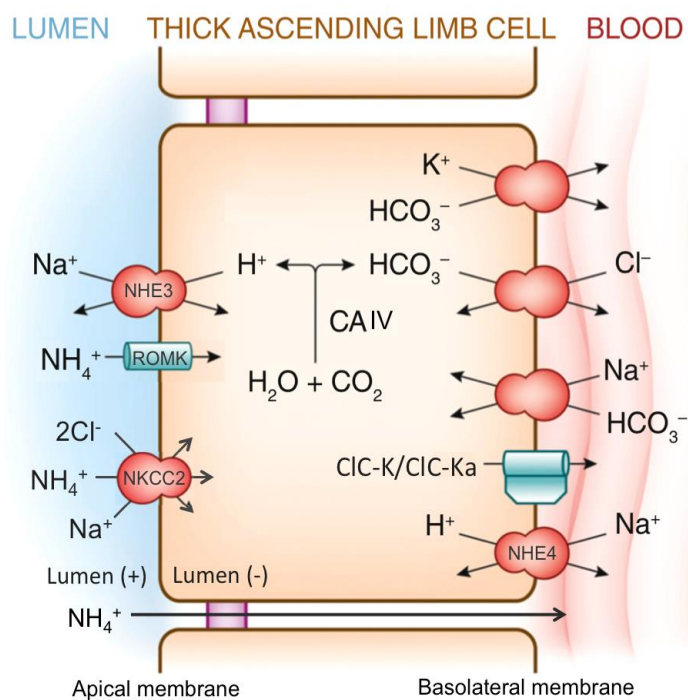


Fig. 7. Equilibrio ácido-base en el asa de Henle.

La enzima anhidrasa carbónica IV (CAIV), a partir de una molécula de agua y de dióxido de carbono (CO₂), genera una molécula de bicarbonato y un hidrogenión. El hidrogenión se secreta a la luz tubular en intercambio con el sodio a través del transportador NHE3, y el bicarbonato se reabsorbe en la membrana basolateral hacia el torrente sanguíneo a través del intercambiador Cl/HCO₃ o el cotransportador K-HCO₃. Por otro lado, el amonio generado como mecanismo *buffer* en la luz del túbulo proximal compite con el potasio para entrar en la célula epitelial a través del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 y el canal de potasio ROMK en la membrana apical, y también se reabsorbe vía paracelular entre las células epiteliales. El amonio intracelular es posteriormente reabsorbido al torrente sanguíneo en intercambio con el sodio a través del intercambiador NHE4 o de la bomba Na/K ATPasa en la membrana basolateral. Modificado de Mount (59).

1.3. Túbulo contorneado distal

El túbulo contorneado distal se extiende desde la mácula densa situada al final del asa de Henle hasta el túbulo colector. Se divide en dos partes: la proximal y la distal (103). Este segmento es impermeable al agua y tiene un papel importante en la reabsorción del cloruro sódico y de los cationes divalentes. La parte distal junto al túbulo colector, son los segmentos sensibles a la aldosterona. La aldosterona es una hormona secretada en la glándula suprarrenal en situaciones de hipovolemia e hiperkalemia, y actúa a través de los receptores de mineralocorticoides expresados en la membrana basolateral de este segmento, y en algunas células epiteliales del túbulo colector, como se comentará más adelante. En la Tabla 3 se resumen las principales tubulopatías pierde sal secundarias a la disfunción de los transportadores de sodio de este segmento.

a) Transporte del cloruro sódico y del potasio en el túbulo contorneado distal

En el túbulo contorneado distal se reabsorbe el 5-10% del sodio filtrado por el glomérulo (104). En la Figura 8 están representados los principales mecanismos de transporte de cloro, sodio y potasio de este segmento y se señalan las tubulopatías pierde sal asociadas a estos transportadores. La bomba Na/K ATPasa situada en la membrana basolateral mantiene una concentración intracelular de sodio baja estimulando su transporte a través del cotransportador NCC (del inglés, *sodium chloride cotransporter*). Este cotransportador realiza la reabsorción de una molécula de sodio y una de cloro en la membrana apical y está codificado por el gen *SLC12A3* (del inglés, *Solute Carrier 12 Member 3*). Este transporte se considera silente o electroneutro, ya que no modifica la carga eléctrica de la luz tubular. Los diuréticos tiazídicos son los que actúan a nivel de transportador.

Para su funcionamiento, además del bajo voltaje intracelular generado por la bomba Na/K ATPasa, es necesario el reciclaje del potasio hacia el torrente sanguíneo en la membrana basolateral. Para ello, existen varios canales de potasio, entre ellos, el canal Kir4.1 (del inglés, *Inwardly Rectifying Potassium Channel subunit 4.1*) codificado por el gen *KCNJ10* (del inglés, *Potassium Inwardly Rectifying Channel Subfamily J Member 10*) es considerado el más

importante. Además, el canal Kir4.1. se expresa junto con otros canales como el Kir4.2 y Kir5.1 formando complejos (105-107). Las variantes patogénicas en los genes *SLC12A3* y *KCNJ10* dan lugar al Síndrome de Gitelman y Síndrome de EAST/SeSAME (del inglés, *Epilepsy, Ataxia, Sensorineural Deafness, Tubulopathy/Seizures, Sensorineural Deafness, Ataxia, Mental Retardation*), respectivamente. Ambos son similares con la excepción de que, teniendo en cuenta que los canales Kir4.1 también se encuentran a nivel cerebral, consecuentemente, los pacientes con el Síndrome de EAST/SeSAME asociarán alteraciones neurológicas (108-110).

Tabla 3. Principales tubulopatías pierde sal en el túbulo contorneado distal

Enfermedad	Gen	Proteína	H	Clínica	OMIM	Ref.
S. de Gitelman	<i>SLC12A3</i>	NCC	AR	Alcalosis hipokalémica, hipocalciuria, hipomagnesemia	263800	(108)
S. de EAST/SeSAME	<i>KCNJ10</i>	Kir4.1	AR	Epilepsia, ataxia, sordera neurosensorial, alcalosis hipokalémica	612780	(109, 110)
S. Bartter III	<i>CLCNKB</i>	CIC-Kb	AR	Alcalosis hipokalémica, hipocloremia severa (+/- PH, prematuridad, nefrocalcinosis)	607364	(70)
S. Bartter IVa	<i>BSND</i>	Barttina	AR	Prematuridad, PH, sordera neurosensorial, alcalosis hipokalémica, hipocloremia, iso/hipostenuria	602522	(71, 72)

S: Síndrome. H: Patrón de herencia. AD: autosómico dominante. AR: autosómico recesivo. PH: polihidramnios

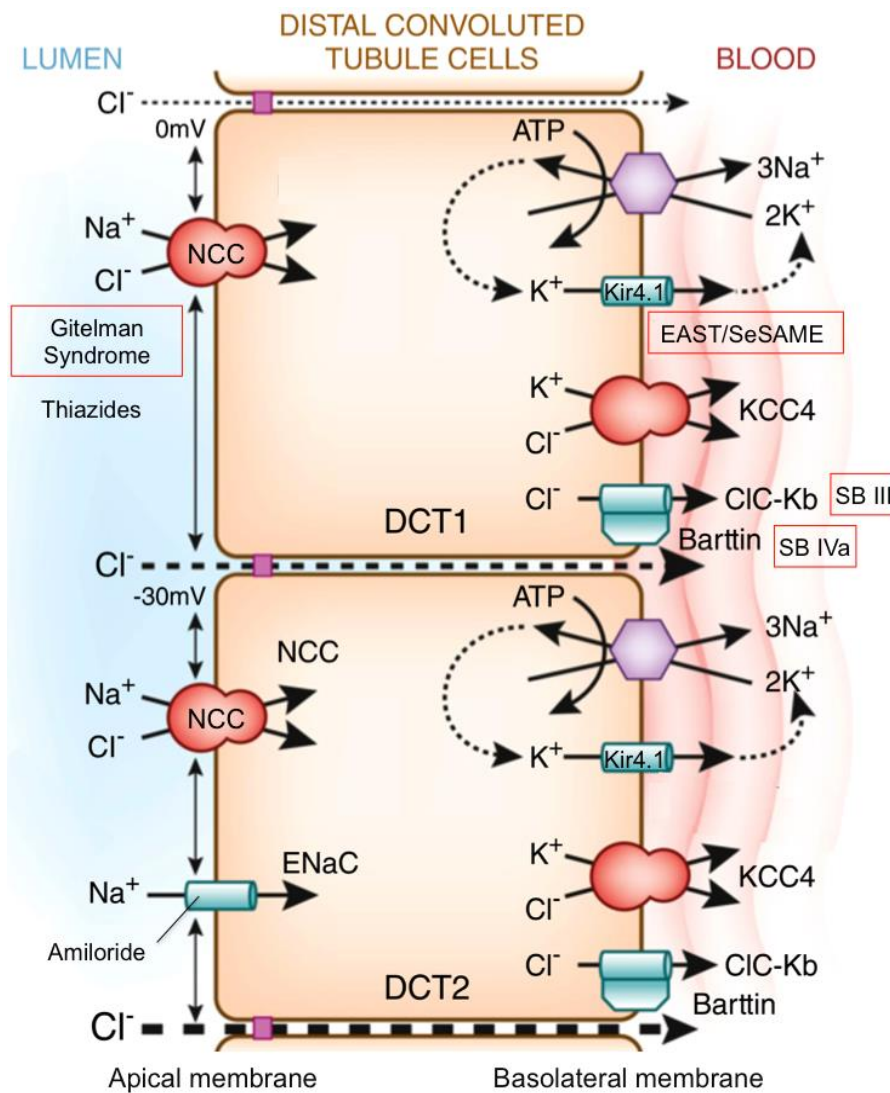


Fig. 8. Principales mecanismos de transporte del cloruro sódico y del potasio en el túbulo contorneado distal y las principales tubulopatías pierde sal.

Se observan dos tipos de células: la DCT1 y la DCT2 que corresponden a la parte proximal y la distal de este segmento, respectivamente. En este segmento se reabsorbe el 5-10% del cloruro sódico filtrado por el glomérulo. La bomba Na^+/K^+ ATPasa situada en la membrana basolateral mantiene una concentración intracelular baja de sodio estimulando el transporte de sodio en la membrana apical. El principal transportador de sodio en las DCT1 es el cotransportador Na^+/Cl^- NCC en la membrana apical. Este transportador es sensible a los diuréticos tiazídicos. Para su funcionamiento precisa del reciclaje de potasio hacia el torrente sanguíneo a través del canal de potasio Kir4.1 . La disfunción del cotransportador Na^+/Cl^- NCC da lugar al Síndrome de Gitelman y la disfunción del canal Kir4.1 al Síndrome de EAST/SeSAME. En las células DCT2 se expresa el canal de sodio ENaC . Este canal es sensible al diurético amiloride. En la membrana basolateral de ambas células DCT1 y DCT2 el sodio intracelular es reabsorbido al torrente sanguíneo a través de la bomba Na^+/K^+ ATPasa, y el cloro a través del cotransportador Cl^-/K^+ KCC4 y el canal de cloro Cl^- CIC-Kb. Este último, al igual que en el asa de Henle, precisa de la subunidad Barttina para su correcta función. La disfunción del CIC-Kb y de la subunidad Barttina darán lugar al Síndrome de Bartter Tipo III (SB III) y al Síndrome de Bartter Tipo IVa (SB IVa), respectivamente. Modificado de Mount (59).

En la parte distal del túbulo contorneado distal se expresa el canal de sodio ENaC (del inglés *Epithelial Sodium Channel*). Se trata, junto al cotransportador Na-Cl NCC, de un canal importante para el transporte activo transcelular del sodio y no precisa el cotransporte de un anión para ello. Consecuentemente, se genera un lumen tubular cada más electronegativo que estimula la reabsorción del cloro de manera pasiva vía paracelular. El diurético amiloride inhibe la función del canal ENaC (111-114). Las tubulopatías asociadas a la disfunción de los canales ENaC se explican en el apartado del túbulo colector.

El cloro que entra en la célula a través del cotransportador Na-Cl NCC, se reabsorbe al torrente sanguíneo mediante el canal de cloro ClC-Kb y el cotransportador Cl-K KCC4 (gen *SLC12A7*) situados en la membrana basolateral. Al contrario que en el segmento grueso del asa de Henle, en este segmento no se expresan los canales de cloro ClC-Ka. El canal de cloro ClC-Kb, como hemos comentado anteriormente, precisa de la subunidad Barttina para su funcionamiento. Por lo tanto, al igual que en el asa de Henle, los pacientes con variantes patogénicas en los genes que expresan el canal de cloro ClC-Kb y la Barttina dan lugar a Síndrome de Bartter Tipo III y Tipo IVa, respectivamente (115).

El cotransportador Na-Cl NCC está regulado por dos proteínas, el SPAK (del inglés, *Proline/Alanine-rich Kinase Protein*) y el OSR1 (del inglés, *Oxidative Stress-Responsive 1 protein*) (116). Así mismo, la actividad de estas dos proteínas está regulada por la familia de proteínas WNK, concretamente por el tipo 1 (WNK1), tipo 3 (WNK3) y 4 (WNK4), y a su vez, la actividad de las WNK está inhibida por la CUL3 (del inglés, *Ubiquitin Ligase Cullin 3*) y el KLH3 (del inglés, *Kelch-like-3*) (117, 118). Mientras que la WNK1 está situada en el citoplasma, el WNK3 y el WNK4 se localizan en las uniones intercelulares de las células epiteliales del túbulo contorneado distal. Regulan el transporte paracelular del cloro, y secundariamente, la función del cotransportador Na-Cl NCC. Los pacientes con variantes activantes en los genes que codifican las proteínas WNK y variantes inhibitoras en los genes que codifican las proteína CUL3 y KLH3 presentan una hiperactividad del cotransportador Na-Cl NCC dando lugar al denominado Pseudohipoaldosteronismo tipo 2, Síndrome de Gordon o Hipertensión Hiperpotasémica Familiar. Esta entidad se considera el espejo de la tubulopatía pierde sal Síndrome de Gitelman. Al contrario que esta última, los pacientes presentan hipertensión, hiperkalemia, acidosis metabólica e hipercalciuria (117-120).

b) Transporte del calcio y magnesio en el túbulo contorneado distal

Aproximadamente el 10-15% del calcio filtrado se reabsorbe en el túbulo contorneado distal. A diferencia del segmento grueso del asa de Henle, en este segmento el calcio y el magnesio se reabsorben de manera activa vía transcelular. En la Figura 9 se muestran los principales transportadores de calcio y magnesio. En la membrana apical, el calcio entra en la célula mediante el canal de calcio TRPV5 (del inglés, *Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily V Member 5*). La actividad de este canal está estimulada por el gradiente intracelular negativo con bajas concentraciones de sodio generado por la bomba Na/K ATPasa y está regulada por la parathormona, la 1,25-hidroxi-vitamina D y la proteína Klotho. El calcio que entra dentro de la célula epitelial se reabsorbe hacia el torrente sanguíneo en la membrana basolateral gracias al Ca ATPasa y al intercambiador Na/Ca NCX 1 (del inglés, *Sodium-Calcium Exchanger type 1*) (121, 122).

Así mismo, el 5-10% del magnesio filtrado por el glomérulo se reabsorbe vía transcelular. En la membrana apical se reabsorbe a través del canal voltaje- dependiente TRPM6 (del inglés, *Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily M Member 6*), y una vez en la célula, es reabsorbido al torrente sanguíneo por mecanismos poco conocidos como la proteína ciclina M2 y el transportador SLC41A1 (del inglés, *Solute Carrier Family 41 Member 1*). La reabsorción del magnesio a través del canal TRPM6 está impulsada principalmente por un potencial de membrana luminal establecido por el canal de potasio Kv1.1 (del inglés, *Potassium Voltage-gated Channel Subfamily A Member 1*) y por la actividad de la bomba Na-K ATPasa situada en la membrana basolateral (123).

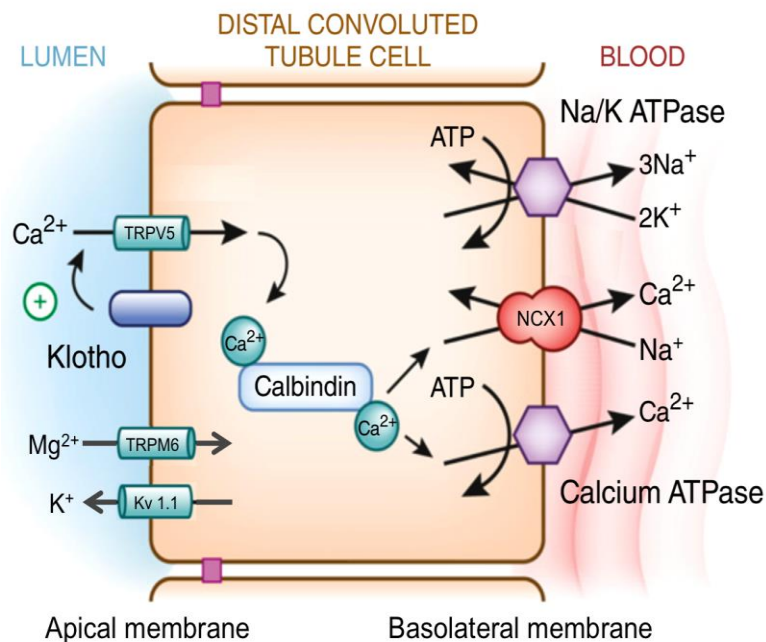


Fig. 9. Principales mecanismos de transporte del calcio y del magnesio en el túbulo contorneado distal.

En el túbulo contorneado distal se reabsorbe el 10-15% del calcio y el 5-10% del magnesio filtrado por el glomérulo. Al contrario que en el asa de Henle donde el transporte de cationes divalentes se realiza vía paracelular, en este segmento se realiza vía transcelular. El transporte apical del calcio se realiza a través del canal del calcio TRPV5 que es estimulado por el gradiente intracelular negativo generado por la bomba Na/K ATPasa. Su actividad está regulada por varios mecanismos, entre ellos la proteína Klotho. Dentro de la célula, el calcio se une a la proteína calbindina que realiza el transporte intracelular del calcio. Cada molécula de calbindina transporta dos moléculas de calcio. En la membrana basolateral, el calcio se reabsorbe en intercambio con el sodio a través del intercambiador NCX1, y a través el Ca ATPasa. Por otro lado, el canal de magnesio TRPM6 permite la entrada de magnesio desde la luz tubular a la célula gracias al gradiente eléctrico lumen positivo generado por el canal de potasio Kv1.1 que secreta potasio hacia la luz tubular. El mecanismo de transporte del magnesio hacia el torrente sanguíneo en la membrana basolateral no es del todo conocido. Se cree que la proteína ciclina M2 y el transportador SLC41A1 participan en este transporte (no representado en la figura). Modificado de Subramanya y colaboradores (121).

1.4. Túbulo colector

El túbulo colector es la parte final de la nefrona y, aunque es el segmento más corto del túbulo, es el lugar donde se realiza la regulación final del sodio y agua permitiendo la emisión de la orina definitiva concentrada. Es un segmento permeable al agua, donde gracias a los canales de agua Aquaporina Tipo 2 reguladas por la hormona antidiurética, la orina pasa de tener una osmolalidad de alrededor de 200 mOsm/kg al final del túbulo contorneado distal, a tener una

osmolalidad de 1200 mOsm/kg en el túbulo colector. Además, tiene un papel importante en la homeostasis ácido-base del organismo. En este segmento, se expresan dos tipos de células: las células principales y las células intercaladas. Así mismo, dentro de las células intercaladas se distinguen dos subtipos: subtipo *alfa* y subtipo *beta*. Cada tipo de célula desempeña una función diferente. Mientras que las células principales se ocupan de la regulación del sodio y agua, las células intercaladas son las que participan sobre todo en la homeostasis ácido-base mediante la secreción de hidrogeniones y la reabsorción de bicarbonato. Al igual que la parte distal del túbulo contorneado distal, el túbulo colector es sensible a la hormona aldosterona que actúa sobre los canales de sodio ENaC. En la Tabla 4 se muestran las principales tubulopatías pierde sal de este segmento

Tabla 4 Principales tubulopatías pierde sal en el túbulo colector

Enfermedad	Gen	Proteína	H	Clínica	OMIM	Ref.
adPHA1	<i>NR3C2</i>	MR	AD	Pérdida de sal transitoria en periodo neonatal con hiponatremia, hiperkalemia y acidosis metabólica	177735	(124)
arPHA1	<i>SCNNIA</i> <i>SCNNIB</i> <i>SCNNIG</i>	ENaC α ENaC β ENaC γ	AR	Hiponatremia, hipokalemia, acidosis metabólica, test del sudor positivo, afectación pulmonar	264350	(125)

arPHA1: Pseudohipoaldosteronismo tipo 1 autosómico recesivo. adPHA1: Pseudohipoaldosteronismo tipo 1 autosómico dominante. H: patrón de herencia. AR: autosómico recesivo. AD: autosómico dominante. MR: receptor mineralocorticoideo.

a) Células principales

Las células principales constituyen el 60% de las células del túbulo colector y su función principal es el transporte de sodio y agua. En la Figura 10 se observan los principales transportadores de la célula principal. La función de las células principales depende de la actividad de la bomba Na-K ATPasa situada en la membrana basolateral. Esta bomba mantiene una concentración intracelular baja de sodio favoreciendo el transporte de sodio desde el lumen hacia el interior de la célula a través de los canales de sodio ENaC situados en la membrana

apical (126). Los canales ENaC están constituidos por tres subunidades (*alpha*, *beta* y *gamma*), y a diferencia de otros transportadores de sodio situados en otros segmentos del túbulo, solamente realizan el transporte de sodio sin participar secundariamente en el cotransporte o antiporte de otros solutos (127).

La aldosterona, hormona conocida como ahorradora de sodio, se produce y se secreta en la corteza de la glándula suprarrenal. Su función principal es estimular la reabsorción hacia el torrente sanguíneo de sodio y agua y, secundariamente, la secreción de potasio e hidrogeniones a la luz del túbulo colector. Por lo tanto, en situaciones de hipovolemia, de baja concentración de sodio, de hiperkalemia o de acidosis metabólica existirá una liberación aumentada de aldosterona en la glándula suprarrenal. Esta hormona se une al receptor mineralocorticoideo situado en las células principales y activa principalmente los canales de sodio ENaC generando un gradiente electronegativo en el lumen (128). Con el fin de neutralizar este gradiente, la reabsorción de cada molécula de sodio va acoplada a la secreción de una molécula con carga positiva o a la reabsorción de una molécula con carga negativa mediante los siguientes transportadores: **a)** Secreción de potasio a la luz tubular través del canal de potasio ROMK expresado en células principales, y a través de canal BK (del inglés, *Big Potassium channel*) expresado tanto en las células principales como intercaladas (129), **b)** Secreción de un hidrogenión al espacio intracelular a través la bomba H ATPasa o el H/K ATPasa en la membrana apical de las células intercaladas *alfa*, y **c)** Reabsorción de una molécula de cloro a través del canal CFTR (del inglés, *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*) en la membrana apical y a través del canal CIC-Kb en la membrana basolateral (130). La espirolactona, considerado como diurético ahorrador del potasio, inhibe la acción de la aldosterona, inhibiendo así la reabsorción del sodio a través de los canales de ENaC y secundariamente la secreción de potasio.

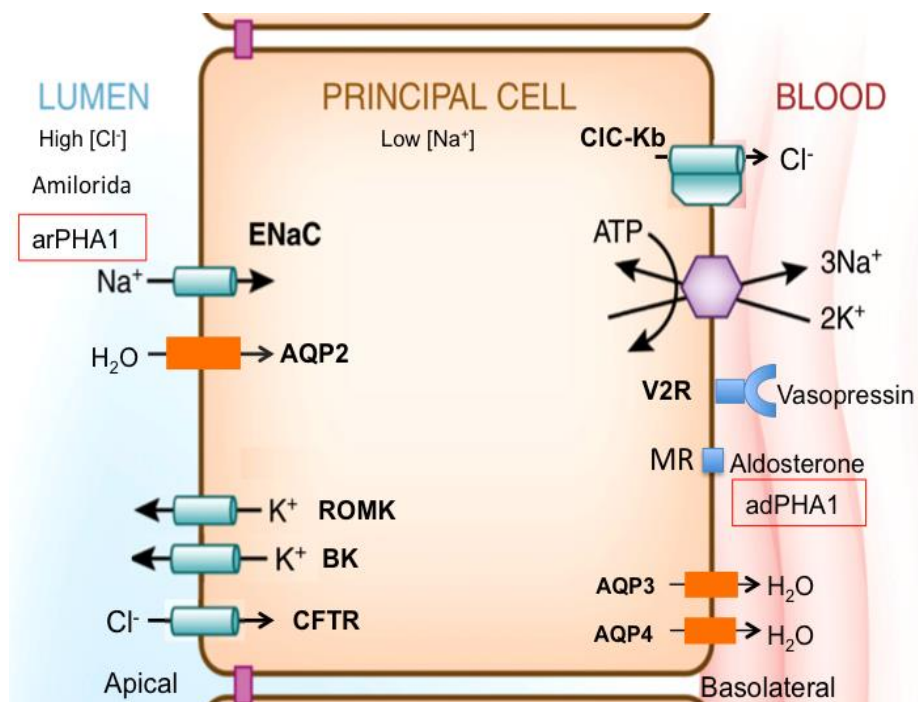


Fig. 10. Principales mecanismos de transporte en las células principales del túbulo colector.

Se encargan principalmente de la reabsorción de sodio y agua. La baja concentración de sodio intracelular generada por la bomba Na/K ATPasa estimula la reabsorción de sodio a través de los canales ENaC en la membrana apical. Su función está regulada por la hormona aldosterona que se secreta en la glándula suprarrenal y se une al receptor mineralocorticoideo (MR en la figura) activando estos canales. La disfunción del canal ENaC da lugar al Pseudohipoaldosteronismo Tipo 1 Autosómico Recesivo (arPHA1) y la disfunción del receptor mineralocorticoideo al Pseudohipoaldosteronismo Tipo 1 Autosómico Dominante (adPHA1). El diurético amilorida inhibe la función de los canales ENaC. Por otro lado, la entrada de cada molécula de sodio en la célula desde la luz tubular está acoplada a la secreción de una molécula de potasio o de un hidrogenión a la luz tubular. La secreción de potasio se realiza a través del canal ROMK (expresado en las células principales) o del canal BK (expresado en las células principales e intercaladas). La secreción de hidrogeniones se realiza a través de la bomba H ATPasa o el intercambiador H/K ATPasa en la membrana apical (expresadas en las células intercaladas *alpha*, no se representan en esta figura). El diurético espironolactona, considerado como ahorrador del potasio, inhibe la acción de la aldosterona, inhibiendo así la reabsorción del sodio a través de los canales de ENaC y secundariamente la secreción de potasio (no mostrado en la figura). La reabsorción de sodio hacia el espacio intracelular a través de los canales ENaC aumenta la concentración de cloro en la luz tubular, favoreciendo su reabsorción a través del canal de transmembrana regulador de la fibrosis quística (CFTR) y se transporta por la membrana basolateral hacia el torrente sanguíneo a través de canales de cloro ClC-Kb. Por otro lado, en este segmento se expresan las Aquaporinas Tipo 2 (AQP2), Tipo 3 (AQP3) y Tipo 4 (AQP4). La hormona antidiurética o vasopresina se secreta en la hipófisis y se une a su receptor V2R (del inglés, *Vasopressin Receptor 2*) permitiendo principalmente la apertura de las Aquaporinas Tipo 2. El agua entra en el espacio intracelular por las AQP2, y reabsorbe hacia el torrente sanguíneo por las AQP3 y AQP4 gracias al gradiente osmótico entre el lumen y el intersticio. Modificado de Roy y colaboradores (3).

Teniendo en cuenta que el túbulo colector es el segmento final del túbulo y que no existe posibilidad de regulación más adelante, los pacientes con defectos de función en los transportadores de este segmento suelen presentar clínica muy severa. Las principales tubulopatías hereditarias de este segmento son el Pseudohipoaldosteronismo tipo 1 Autosómico Recesivo (arPHA1) y el Pseudohipoaldosteronismo tipo 1 Autosómico Dominante (adPHA1). Mientras que en el arPHA1 existe un defecto de función en cualquiera de las subunidades del canal ENaC (ENaC α , ENaC β y ENaC γ), el adPHA1 es secundario a mutaciones en el gen *NR3C2* (del inglés, *Nuclear Receptor Subfamily 3 Group C Member 2*) que codifica el receptor mineralocorticoideo. Los pacientes con arPHA1 presentan clínica severa de deshidratación y pérdida ponderal con hiponatremia los primeros días de vida asociando hiperkalemia y acidosis metabólica. Además, teniendo en cuenta que los canales ENaC también se expresan en el pulmón y la piel, estos pacientes pueden presentar manifestaciones de estos órganos. En el adPHA1, los pacientes presentan manifestaciones exclusivas renales, siendo una entidad menos severa que la arPHA1 y, por razones que no se conocen, los síntomas se resuelven espontáneamente a lo largo de la infancia (124, 131-133). Por el contrario, la hiperactividad del canal ENaC secundaria a un hiperaldosteronismo da lugar al Síndrome de Liddle que, al contrario de lo que ocurre en el pseudohipoaldosteronismo, cursa con hipertensión y pérdida de potasio e hidrogeniones por orina

Por otro lado, en el túbulo colector se realiza la concentración urinaria para formación de la orina definitiva. Para ello, en la membrana apical se expresan los canales de Aquaporina Tipo 2 (AQP2) y en la membrana basolateral la Aquaporina Tipo 3 (AQP3) y la Aquaporina Tipo 4 (AQP4). La hormona antidiurética ADH (del inglés, *AntiDiuretic Hormone*) también denominada vasopresina es el principal estímulo para la apertura de estos canales. Esta hormona es liberada en la hipófisis principalmente en respuesta a cambios en la osmolalidad sérica o en situaciones de hipovolemia y se une al receptor de la vasopresina tipo 2 codificado por el gen *AVPR2* (del inglés, *Arginine Vasopressin Receptor 2 gene*) de las células principales permitiendo la reabsorción de agua principalmente a través de los canales AQP2. La Diabetes Insípida Nefrogénica es debida a variantes patogénicas en el gen que codifica la Aquaporina Tipo 2 (gen *AQP2*) o en el gen *AVPR2* (134-137).

b) Células intercaladas *alfa* y *beta*

Las células intercaladas *alfa* participan en el mantenimiento del equilibrio ácido-base en situaciones de acidosis metabólica. En la Figura 11 se muestran los principales transportadores de las células *alfa* del túbulo colector.

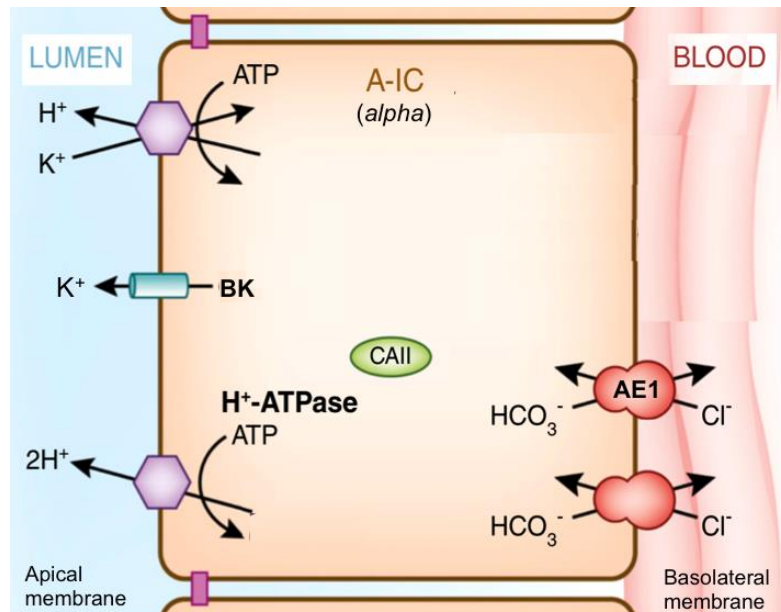


Fig. 11. Principales mecanismos de transporte de las células intercaladas *alfa* del túbulo colector (A-IC).

Se secretan hidrogeniones a la vía urinaria a través del H ATPasa o el intercambiador H/K ATPasa. La secreción de un hidrogenión genera una molécula de bicarbonato gracias a la enzima anhidrasa carbónica II (CAII). El bicarbonato se reabsorbe basolateralmente en intercambio con el cloro a través del transportador AE1. Modificado de Roy y colaboradores (3).

En la membrana apical se secretan hidrogeniones a vía urinaria a través del H ATPasa o el intercambiador H/K ATPasa. Los genes *ATP6V0A4* (del inglés, *ATPase H Transporting V0 Subunit A4*) y *ATP6V1B1* (del inglés, *ATPase H Transporting V1 Subunit B1*) expresan distintas subunidades de la bomba H ATPasa. La secreción de un hidrogenión a la vía urinaria genera una molécula de bicarbonato intracelular gracias a la enzima anhidrasa carbónica II. La molécula de bicarbonato generada dentro de la célula es reabsorbida hacia el torrente sanguíneo en intercambio con el cloro mediante el transportador AE1 (del inglés, *Anion Exchanger 1*) codificado por el gen *SLC4A1* (del inglés, *Solute Carrier Family 4 Member 1*) (3, 138). Las

variantes patogénicas en los genes *SLC4A1*, *ATP6V0A4* y *ATP6V1B1* dan lugar a la Acidosis Tubular Renal Distal (139).

Por otro lado, en las células intercaladas *beta*, se expresa el intercambiador Cl/HCO_3 denominado pendrina y el $\text{HCO}_3/\text{Na}-\text{Cl}$ denominado NDCBE (del inglés, *Sodium-Driven Chloride/Bicarbonate Exchanger*) en la membrana apical, y la bomba H ATPasa en la membrana basolateral. La reabsorción del cloruro sódico en el túbulo colector es electroneutra y está estimulada por la bomba H ATPasa de la membrana basolateral. La pendrina y el NDCBE funcionan de manera coordinada, es decir, por cada dos ciclos de la pendrina el NDCBE realiza un ciclo de manera que se reabsorbe una molécula de sodio, una de cloro y dos de bicarbonato (3, 140). El cloro se reabsorbe en la membrana basolateral a través de los canales de cloro ClC-Kb , y el bicarbonato y el sodio a través del cotransportador AE4 (del inglés, *Anion Exchanger 4*) (141). En la Figura 12 se muestran los principales transportadores de las células *beta* del túbulo colector. El intercambiador pendrina posee un papel importante tanto en la homeostasis ácido-base como en el balance de electrolitos en situaciones de hipovolemia. En caso de hipocloremia o de pérdidas excesivas de cloro por orina la expresión de la pendrina estará incrementada, aumentando la reabsorción de sodio y bicarbonato secundariamente. Por otro lado, la angiotensina II y la aldosterona también aumentan la expresión de la pendrina, y ésta, secundariamente, la expresión de los canales ENaC. Por lo tanto, ante una disfunción del canal pendrina existirá también una disfunción secundaria de los canales ENaC (140, 142, 143).

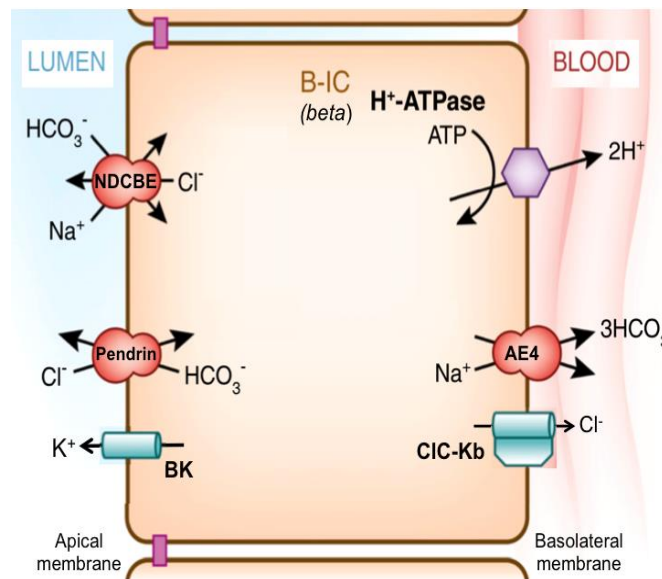


Fig. 12. Principales mecanismos de transporte de las células intercaladas *beta* del túbulo colector (B-IC).

En las células *beta* se reabsorbe bicarbonato mediante el intercambiador Cl/HCO_3 (pendrina) y el $\text{HCO}_3/\text{Na}-\text{Cl}$ (NDCBE) en la membrana apical. La función de ambos transportadores está estimulada por el gradiente electronegativo intracelular generado por la bomba H^+ ATPasa situada en la membrana basolateral. El bicarbonato y el sodio se reabsorben basolateralmente al torrente sanguíneo a través del cotransportador AE4, y el cloro a través del ClC-Kb. Modificado de Roy y colaboradores (3).

2. TUBULOPATÍAS PIERDE SAL

2.1. Clasificación de las tubulopatías pierde sal

Las tubulopatías pierde sal (TPS) son un grupo heterogéneo de patologías que, como su nombre indica, tienen en común una pérdida de sal excesiva por orina. Aunque existen numerosas tubulopatías que afectan al transporte del sodio en el túbulo, las TPS principales son el Síndrome de Bartter y el Síndrome de Gitelman. El responsable de cada una de ellas es la disfunción de un transportador específico situado en el asa de Henle y/o en el túbulo contorneado distal.

Las TPS presentan una gran similitud fenotípica entre ellas, debido a que comparten mecanismos fisiopatológicos que son los causantes de los signos clínicos. La poliuria, el fallo de medro y la alcalosis metabólica con hipokalemia son signos comunes que aparecen de manera más o menos severa en cada una de ellas. Además, dentro de cada tipo de TPS, existe una gran heterogeneidad en cuanto a la edad de presentación clínica y al pronóstico, lo que

hace que en ocasiones resulte difícil diferenciarlas. A lo largo del tiempo se han intentado clasificar las TPS con el fin de entender la fisiopatología específica en cada una de ellas. Las primeras clasificaciones se realizaron basándose en pruebas funcionales para intentar identificar los segmentos y transportadores específicos responsables de la pérdida de sal y agua por orina en cada TPS. Sin embargo, debido a los mecanismos compensatorios de cada individuo y a los factores medioambientales que podrían modular la excreción de los electrolitos, los resultados de estas pruebas eran difíciles de interpretar. Por otro lado, también se demostró que algunas tubulopatías pierden sal presentaban disfunciones en transportadores que eran sensibles a algunos diuréticos (144-146). Por lo tanto, se propuso otra estrategia para la agrupación de las TPS basándose en los mecanismos de acción de estos fármacos (147-149). Por ejemplo, el Síndrome de Bartter Tipo I es debido a la disfunción del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 que es sensible al diurético furosemida. Por consiguiente, los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo I presentarán una clínica similar a los pacientes que reciben furosemida de manera crónica. Esta clasificación, junto a la biología molecular que se desarrolló a partir de la década de los 90, ha facilitado la caracterización de los pacientes con TPS en base a la fisiopatología y al genotipo de cada una de ellas permitiendo realizar un mejor manejo terapéutico (144-146, 150-153).

De acuerdo con la clasificación fisiológica y farmacológica, las principales TPS pueden dividirse en tres grupos: **1)** Los trastornos del asa de Henle que tienen un efecto similar a la acción de la furosemida: en este grupo encontramos los trastornos causados por el defecto en el cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 (Síndrome de Bartter Tipo I) o en el canal de potasio ROMK (Síndrome de Bartter Tipo II), **2)** Los trastornos del túbulo contorneado distal que tienen un efecto similar a la acción de los diuréticos tiazídicos: en este grupo encontramos los causados por un defecto en el cotransportador Na-Cl NCC (Síndrome de Gitelman), en el canal del cloro ClC-Kb (Síndrome de Bartter Tipo III) y en el canal de potasio Kir4.1 (Síndrome de EAST/SeSAME), y **3)** La disfunción combinada del asa de Henle y del túbulo contorneado distal que tienen un efecto similar a la acción de los diuréticos furosemida y tiazida. Este último grupo es considerado el más severo de las TPS donde están el Síndrome de Bartter Tipo IVa, el Tipo IVb y el Tipo V (149-154). En la Tabla 5 se observa la clasificación de las TPS en función del segmento afectado, y se representa la similitud entre las TPS y la acción de distintos diuréticos en transportadores concretos del túbulo.

Tabla 5. Clasificación fisiológica y farmacológica de las tubulopatías pierde sal. Modificado de Seyberth (149)

Tipo de TPS	Segmento afectado	Proteína	Diurético
Trastornos del asa			
- SB Tipo I (<i>SLC12A1</i>)	SGAAH	NKCC2	Furosemida
- SB Tipo II (<i>KCNJ1</i>)	SGAAH/TC*	ROMK	Furosemida-amiloride
Trastornos del TCD			
- SB Tipo III (<i>CLCNKB</i>)	TCD/SGAAH*	ClC-Kb	Tiazida-furosemida
- S. Gitelman (<i>SLC12A3</i>)	TCD	NCC	Tiazida
- EAST/SeSAME (<i>KCNJ10</i>)	TCD	Kir4.1	Tiazida
Trastornos combinados			
- SB Tipo IVa (<i>BSND</i>)	SGAAH+TCD	Barttina	Furosemida-tiazida
- SB Tipo IVb (<i>CLCNKA + CLCNKB</i>)	SGAHH+TCD	ClC-Ka + ClC-Kb	Furosemida-tiazida
- SB Tipo V [‡]	SGAAH + TCD	MAGED2	Furosemida-tiazida

Entre paréntesis se muestra el gen afectado en cada una de las tubulopatías pierde sal.

TPS: Tubulopatía pierde sal. SB: Síndrome de Bartter. SGAAH: segmento grueso del asa de Henle. TC: túbulo colector. TCD: túbulo contorneado distal.

*La afectación de este segmento tubular es menor

‡Las variantes en el gen MAGED2 dan lugar a una disfunción transitoria de los transportadores NKCC2 y NCC que se resuelve en las primeras semanas de vida

El Síndrome de Bartter fue descrito por primera vez en 1962 por Frederic Crosby Bartter en 2 pacientes varones de 5 y 25 años con retraso de crecimiento, alcalosis metabólica hipopotasémica e hipoclorémica con hiperaldosteronismo, y elevación de la angiotensina II. Desde el punto de vista histológico, ambos pacientes presentaban una hiperplasia del aparato yuxtglomerular (156). Posteriormente se describieron varios pacientes con clínica similar diagnosticándose a todos ellos de Síndrome de Bartter (157-159). Los estudios de biología molecular realizados a partir de 1996, permitieron conocer que el Síndrome de Bartter es un

trastorno heterogéneo en el que se produce un defecto en la reabsorción tubular de sodio, potasio y cloro secundario a la disfunción de distintos transportadores. Inicialmente en el año 1996 se describieron los genes implicados en el Síndrome de Bartter Tipo I (gen *SLC12A1*) y Tipo II (gen *KCNJ1*) (68, 69). Así mismo, aunque la primera descripción de Síndrome de Gitelman, como entidad distinta del Síndrome de Bartter, se realizó en el año 1966, en el año 1996 se estableció que este Síndrome está producido por variantes en el gen *SLC12A3* que codifica el transportador Na-Cl NCC (160). En el 1997 Simon y colaboradores, encontraron la causa del denominado Síndrome de Bartter Clásico o Tipo III, al detectar variantes en el gen *CLCNKB* que codifica el canal del cloro ClC-Kb en una serie de pacientes que no presentaban alteraciones en los genes implicados en el Síndrome de Bartter Tipo I y II (70).

Posteriormente, en el año 2001 se hallaron variantes en el gen que codifica la subunidad Barttina (gen *BSND*) en 5 pacientes pertenecientes a una extensa familia beduina consanguínea afectados de Síndrome de Bartter que asociaban sordera neurosensorial denominando a este cuadro Síndrome de Bartter IVa (71, 157). Schlingman y colaboradores, en el año 2004, describieron el Tipo IVb tras identificar a un paciente con pérdida salina y sordera que, en ausencia de variantes en el gen *BSND*, presentaba variantes tanto en el gen *CLCNKB* que codifica el canal del cloro ClC-Kb y en el gen *CLCNKA* que codifica el canal del cloro ClC-Ka (73). Más adelante, se describió que los pacientes con variantes activantes en el gen que codifica receptor sensor del calcio (gen *CaSR*) situado en el asa de Henle presentan una clínica similar al Síndrome de Bartter. Inicialmente a este cuadro se le denominó Síndrome de Bartter Tipo V o Hipocalcemia Autosómica Dominante, sin embargo, actualmente se considera un cuadro aparte del Síndrome de Bartter nombrándolo solamente Hipocalcemia Autosómica Dominante (161, 162). En la actualidad, se llama Síndrome de Bartter Tipo V a la forma severa de Síndrome de Bartter antenatal que se resuelven en las primeras semanas o meses de vida y que son secundarias a variantes en el gen *MAGED2*. Esta entidad, a diferencia de los Tipo I-IV de Síndrome de Bartter que son autosómicos recesivos, presenta una herencia ligada al X (74, 154).

2.2. Presentación clínica y mecanismos fisiopatológicos de las tubulopatías pierde sal

a) Trastornos del asa de Henle

En este grupo se encuentran el Síndrome de Bartter Tipo I y Tipo II que son tubulopatías pierde sal secundarias a la disfunción del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 y del canal de potasio ROMK, respectivamente (68, 69). En el caso del Síndrome de Bartter Tipo II, la función adecuada del canal ROMK es necesaria para que el cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 funcione adecuadamente. Por lo tanto, en ambas tubulopatías, la reabsorción activa del sodio, potasio y cloro está disminuida en el asa de Henle. Además, teniendo en cuenta que los canales de potasio ROMK se expresan también en el túbulo colector, los pacientes con disfunción de este canal pueden presentar características clínicas de disfunción de este segmento. Ambos tipos se caracterizan por presentar poliuria desde el periodo prenatal que da lugar a un polihidramnios con pérdida excesiva de sal, agua y otros iones en orina con un nacimiento prematuro. Además, presentarán una alcalosis metabólica hipokalémica con isostenuria o hipostenuria (163). Una característica del Síndrome de Bartter Tipo II es la hiperkalemia transitoria que presentan los primeros días de vida. En el túbulo colector, el canal de potasio BK se expresan junto al canal ROMK en la membrana apical, y ambos se encargan de la secreción del potasio a la luz tubular. En el Síndrome de Bartter Tipo II, el canal BK compensará la disfunción del canal ROMK. Sin embargo, en el periodo neonatal, debido a la inmadurez del túbulo, no existirá esta compensación, por lo que los pacientes presentarán una hiperkalemia transitoria. Tras el periodo neonatal, cuando el túbulo madura, estos pacientes presentarán una hipokalemia menos severa que el resto de tipos de Síndrome de Bartter (163, 164).

La prostaglandina E2 (PGE2) presenta un papel importante en la patogenia de los trastornos del asa de Henle, sobre todo en los primeros días de vida, donde la hipovolemia secundaria a la poliuria puede suponer un riesgo elevado de complicaciones en los pacientes prematuros. El cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 se expresa a lo largo de todo el segmento grueso del asa ascendente de Henle, incluyendo en la zona distal donde se encuentra la mácula densa. La mácula densa forma parte del aparato yuxtaglomerular. Este aparato se encarga de la retroalimentación tubuloglomerular, y está constituido por la mácula densa, por las células

yuxtaglomerulares de la arteriola aferente y por las células mesangiales extraglomerulares (165). La mácula densa está formada por un grupo de células epiteliales hiperplásicas, y su función es la secreción de la PGE₂ dependiendo de la concentración de sodio y cloro en la luz tubular del segmento grueso del asa de Henle y, de manera menos importante, en el inicio del túbulo contorneado distal. En la pared de la arteriola aferente también se encuentran las células granulosas yuxtaglomerulares donde se sintetiza la renina. En situaciones de hipovolemia donde existe una disminución de la concentración de sodio y cloro en la luz tubular, la mácula densa expresa la enzima ciclooxigenasa tipo 2 liberando PGE₂, lo que estimula la vasodilatación de la arteriola aferente y estimula la secreción de renina en las células yuxtaglomerulares activando secundariamente el sistema renina-angiotensina-aldosterona. Concretamente en los trastornos del asa, la mácula densa está intacta, sin embargo, en situaciones en las que existe una disfunción del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 como en el Síndrome de Bartter Tipo I, no entrará sodio ni cloro en las células epiteliales por lo que la mácula densa estimulará la secreción de la PGE₂. Tras la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona, la hormona aldosterona activará la reabsorción de sodio a través de los canales ENaC en el túbulo colector con el fin de aumentar la volemia y la filtración glomerular. Además, por razones de electroneutralidad, la reabsorción de sodio en el túbulo colector esta acoplada con la secreción de hidrogeniones y de potasio a la luz tubular dando lugar a alcalosis hipokalémica pudiendo desencadenar efectos graves en el sistema cardiovascular y neuromuscular (166-169). En la Figura 13 se representa la mácula densa con sus principales componentes.

La enzima ciclooxigenasa tipo 2, responsable de la formación de la PGE₂, se expresa en las células epiteliales del segmento ascendente del asa de Henle, de la mácula densa y del túbulo colector (170). La PGE₂, aparte de estimular la secreción de renina, actúa a través de sus receptores que se expresan tanto en el segmento grueso del asa ascendente de Henle y en el túbulo colector, e inhibe la acción que tiene la hormona antidiurética. Esta hormona, estimula la reabsorción de cloruro sódico en el segmento del asa de Henle para mantener el mecanismo de concentración contracorriente, y activa la reabsorción de agua a través de los canales de agua Aquaporina tipo 2. Por lo tanto, la hipersecreción de la PGE₂ en las TPS, al inhibir la acción de la hormona antidiurética, empeorará la poliuria y la pérdida de sal, dando lugar a una Diabetes Insípida Nefrogénica Secundaria (171-173). Por otro lado, también se ha planteado

que, en el Síndrome de Bartter, al igual que en el postoperatorio de los pacientes intervenidos de estenosis pieloureteral que presentan poliuria posterior a la desobstrucción, el alto flujo de orina que llega al túbulo colector altera la expresión de los canales de agua Aquaporina tipo 2 en la membrana apical, lo que empeorará la poliuria dando lugar a una Diabetes Insípida Nefrogénica Secundaria (174, 175). En la Figura 14 se representa de manera esquemática la función de la PGE2 en la patogenia de los trastornos del asa de Henle.

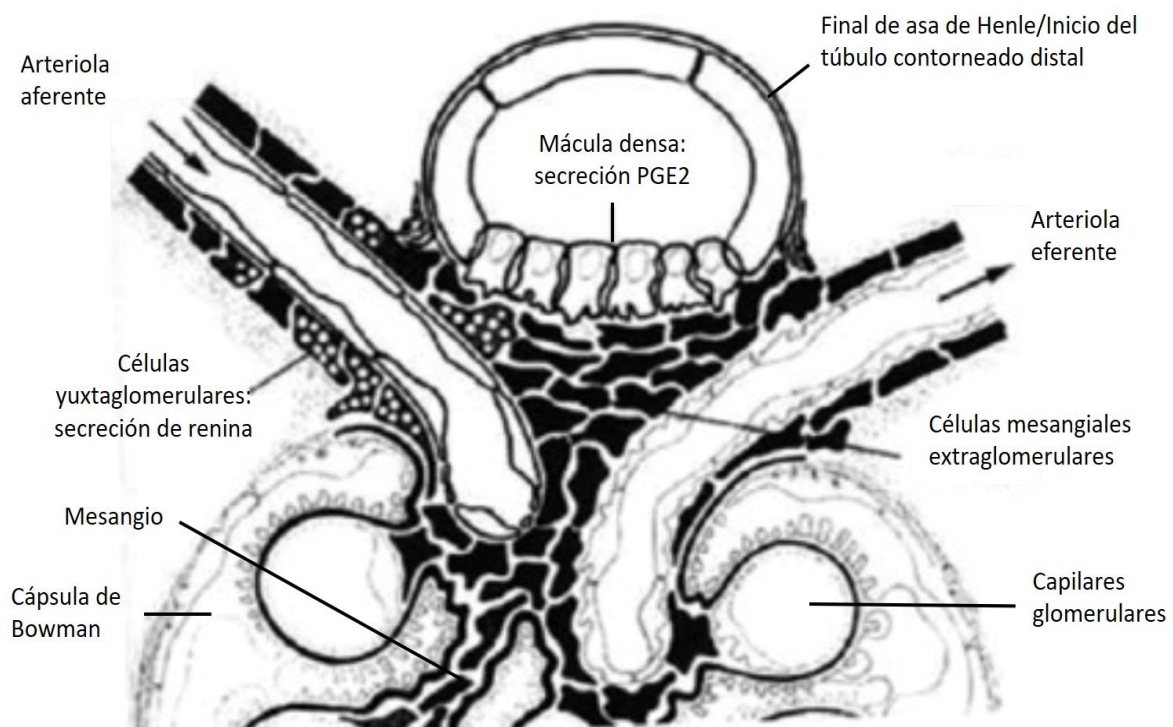


Fig. 13. El aparato yuxtaglomerular.

El aparato yuxtaglomerular es una estructura que se encarga de la retroalimentación tubuloglomerular para mantener el flujo sanguíneo renal. Está constituido por tres componentes: **1) Mácula densa:** células hiperplásicas del epitelio al final de asas de Henle y el inicio del túbulo contorneado distal donde se secreta la prostaglandina E2, **2) Las células yuxtaglomerulares** en la arteriola aferente donde se secreta la renina, y **3) Las células mesangiales extraglomerulares:** células que se continúan con el mesangio y son el punto de conexión entre la mácula densa y las células mesangiales intraglomerulares. Aunque se desconoce su función exacta, se cree que participa en la producción de matriz mesangial, de citoquinas, de eritropoyetina y además contienen actina y miosina por lo que se contraen tras recibir el estímulo de la angiotensina II. Adaptado de Palmer y colaboradores (165).

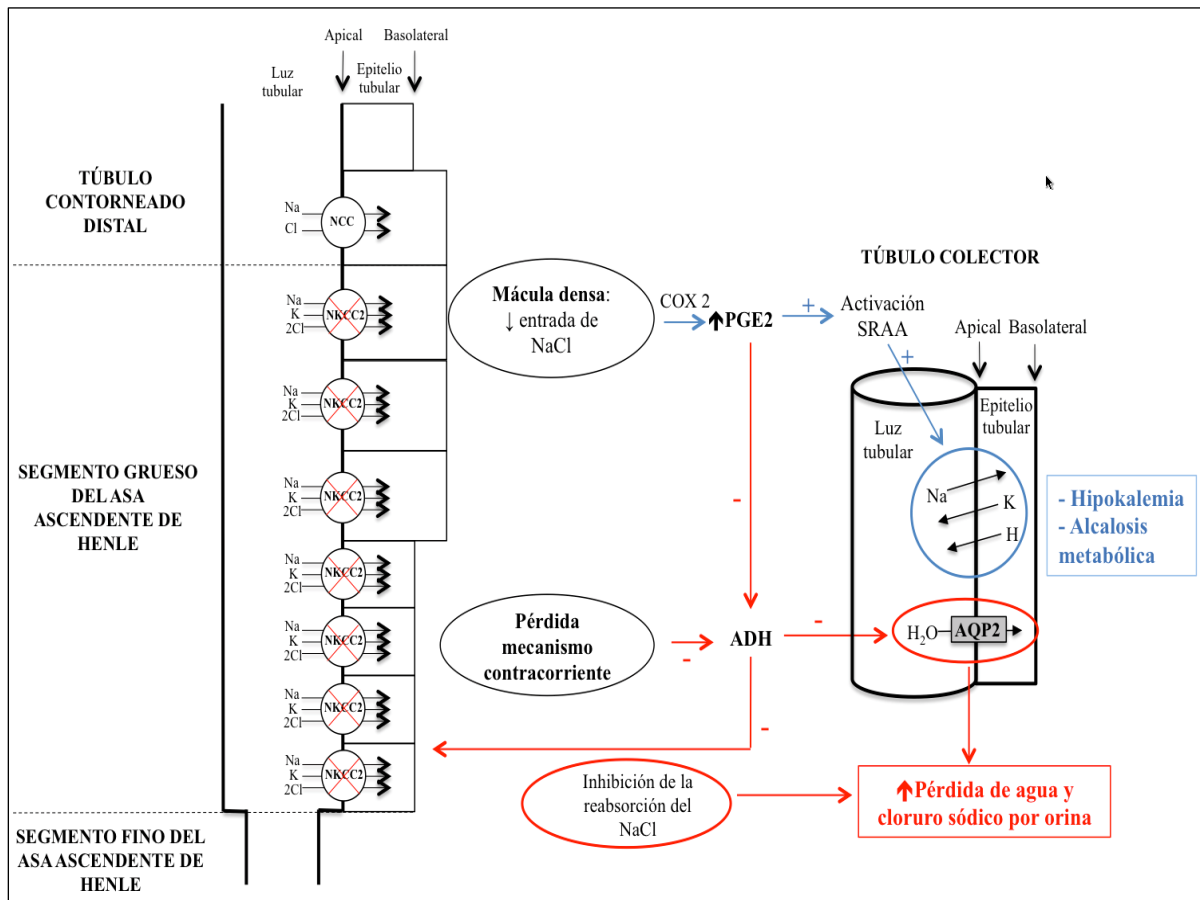


Fig. 14. Función de la prostaglandina E2 en los trastornos del asa de Henle.

La disfunción del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 en el segmento grueso del asa ascendente de Henle disminuye la entrada de cloruro sódico en las células epiteliales de la mácula densa simulando un estado de hipovolemia y falta de perfusión renal. En consecuencia, la mácula densa estimula la secreción de la prostaglandina E2 (PGE2) a través de la enzima ciclooxygenasa tipo 2 (COX2), aumentando la secreción de renina en las células yuxtaglomerulares con la consiguiente activación del sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA). La aldosterona estimula la reabsorción del sodio a través de los canales de sodio ENaC en el túbulo colector, y por motivos de electroneutralidad, se secreta potasio por los canales ROMK e hidrogeniones a través de la bomba H ATPasa lo que dará una alcalosis metabólica e hipokalemia. Por otro lado, la PGE2 inhibe la acción de la hormona antidiurética (ADH) por lo que no podrá estimular la reabsorción de cloruro sódico en el asa de Henle favoreciendo la pérdida salina por orina. Además, debido a la disfunción del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 se perderá el gradiente osmótico intersticial corticomedular necesario para mantener el mecanismo contracorriente. Todo ello inhibirá la reabsorción del agua en el túbulo colector a través de los canales Aquaporina tipo 2 empeorando la poliuria en las TPS.

Otro efecto fisiopatológico secundario a los mecanismos de compensación es la hiper calciuria y la nefrocalcinosis que presentan los pacientes con trastornos del asa de Henle. Debido al defecto de función del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2, el potencial transepitelial luminal positivo necesario para el transporte paracelular de cationes estará disminuido (150, 176). Por lo tanto, el calcio y el magnesio que llegan al túbulo contorneado distal serán reabsorbidos por mecanismos diferentes (177). En las tubulopatías pierde sal, existe una hipertrofia compensadora en los segmentos anteriores y posteriores del segmento afectado. En la Figura 15 se representa de manera esquemática la hipertrofia compensadora de los segmentos no afectados en cada tubulopatía pierde sal (155).

En los trastornos del asa, existirá una hipertrofia del túbulo contorneado distal y del túbulo colector. Por un lado, la hiperactividad del cotransportador Na-Cl NCC en el túbulo contorneado distal y la de los canales ENaC compensará la pérdida de sodio por orina. Por otro lado, existirá un aumento de la actividad del canal de magnesio TRPM6 en el túbulo contorneado distal que se encarga de reabsorber magnesio en la membrana apical, compensando así la pérdida renal de magnesio. Por lo tanto, la hipomagnesemia no es un hallazgo frecuente en los pacientes con trastornos del asa. Sin embargo, no existe este mecanismo compensatorio para el calcio. Debido a la hiperactividad compensadora del cotransportador Na-Cl NCC en el túbulo contorneado distal con el fin de compensar las pérdidas de sal en los trastornos del asa, la concentración intracelular de sodio es alta, lo que inhibirá la reabsorción del calcio a través de la membrana basolateral por el intercambiador Na/Ca NCX1. Todo ello da lugar a una alta concentración intracelular de calcio, disminuyendo la entrada de calcio por la membrana apical a través del canal TRPV5. Por lo tanto, los pacientes con trastornos del asa presentarán hiper calciuria y nefrocalcinosis, incluso durante la infancia, con riesgo de desarrollar osteopenia a largo plazo (155).

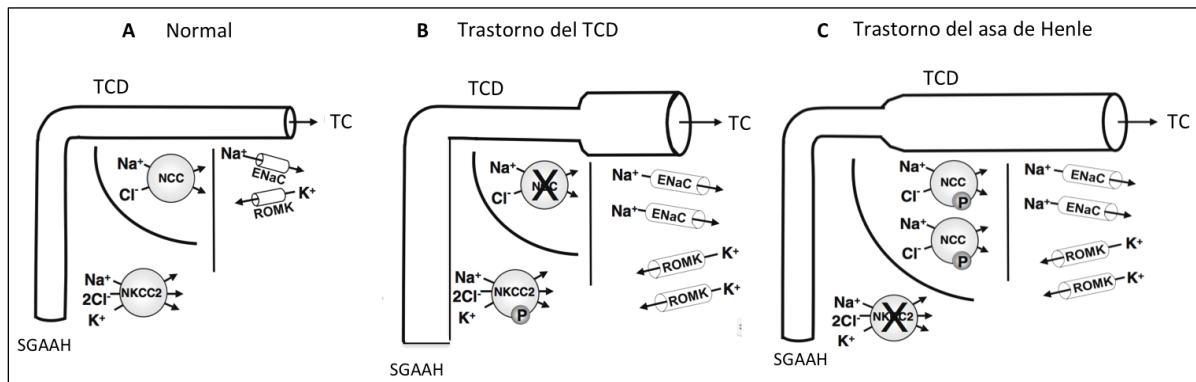


Fig. 15. Representación esquemática de la hipertrofia compensadora de los segmentos no afectados en cada tipo de tubulopatía pierde sal.

A) Paciente sano, B) Paciente con trastorno del túbulo contorneado distal (TCD): debido al defecto del cotransportador Na-Cl NCC, existirá una hipertrofia del túbulo colector (TC) con una hiperactivación de los canales de sodio ENaC y de potasio ROMK. Además, también existirá una hipertrofia del segmento grueso del asa de Henle (SGAAH) con la hiperactivación por fosforilación (P) del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2, y **C) Paciente con trastornos del asa de Henle:** debido al defecto del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2, se dará una hipertrofia del TCD aumentando la actividad del cotransportador Na-Cl NCC y una hipertrofia del TC con una hiperactividad de los canales de sodio ENaC y de potasio ROMK. Adaptado de Seyberth (155).

b) Trastornos del túbulo contorneado distal

En este grupo se encuentran el Síndrome de Bartter Tipo III secundario al defecto del canal del cloro ClC-Kb, el Síndrome de Gitelman secundario al defecto del cotransportador Na-Cl NCC, y el Síndrome EAST/SeSAME debido al defecto de los canales de potasio Kir4.1. A pesar de que en el Síndrome de Bartter Tipo III y en el Síndrome de EAST/SeSAME los pacientes no presentan un trastorno primario en el transporte del sodio, presentarán secundariamente una disfunción del transportador Na-Cl NCC lo que dará lugar a pérdidas excesivas de sal por orina (70, 108, 109, 155, 166).

Los trastornos que afectan exclusivamente al túbulo contorneado distal, como el Síndrome de Gitelman, difieren de los trastornos de asa en la edad de presentación clínica. Generalmente, son considerados como tubulopatías relativamente benignas que no presentan tanta poliuria como los trastornos del asa y están asintomáticos los primeros años de vida, incluso, en ocasiones hasta la edad adulta. En la edad adulta, estos pacientes presentan fatiga muscular, avidez por la sal, calambres y tetania. La hipocalciuria e hipomagnesemia es una característica

del Síndrome de Gitelman (178-185), y en el Síndrome de EAST/SeSAME los pacientes presentarán síntomas similares al Síndrome de Bartter Tipo III asociados a ataxia, epilepsia y sordera neurosensorial (106, 110). En los trastornos del túbulo contorneado distal, la capacidad de concentración de orina suele estar conservada ya que al no existir un defecto exclusivo del asa de Henle, no se altera el mecanismo de concentración contracorriente (163, 166). Además, la hipersecreción de la prostaglandina E2 es menor, teniendo en cuenta que la mácula densa se sitúa sobre todo al final del segmento grueso del asa de Henle y, en menor medida, al inicio del túbulo contorneado distal (163). Así mismo, existirá una hipertrofia compensadora del túbulo colector y del asa de Henle con una hiperactivación de sus canales. La hiperactividad del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 aumenta el potencial transepitelial luminal positivo y estimulará la reabsorción paracelular de calcio y magnesio. Por lo tanto, estos pacientes presentarán hipocalciuria. Por otro lado, la pérdida de función concomitante del canal de magnesio TRPM6 en el túbulo contorneado distal dará lugar a una hipomagnesemia (150, 155, 186)

Mientras que el Síndrome de Gitelman se considera que es el prototipo de un trastorno del túbulo contorneado distal, en el Síndrome de Bartter Tipo III, debido a que los canales de cloro ClC-Kb se expresan tanto en el asa de Henle como en el túbulo contorneado distal, existe una afectación de ambos segmentos (187). En el asa de Henle se expresan ambos canales de cloro ClC-Ka y ClC-Kb, y en el túbulo contorneado distal se expresa exclusivamente el canal ClC-Kb. Ante un defecto del canal ClC-Kb, en el asa de Henle el ClC-Ka ayudará a compensar su función mientras que en el túbulo contorneado distal no existirá este mecanismo de compensación. Es por ello, que el Síndrome de Bartter Tipo III, es considerado sobre todo una tubulopatía del túbulo contorneado distal, donde la hipercalciuria y la nefrocalcinosis no son frecuentes, ya que el mecanismo de reabsorción paracelular del calcio en el segmento grueso del asa ascendente de Henle no está tan afectado (178, 188). Además, debido a la afectación mixta de ambos segmentos tubulares, y dependiendo del grado de afectación, existe una gran heterogeneidad en la presentación clínica pudiendo presentar signos clínicos de disfunción de un segmento u otro. Por lo tanto, los pacientes pueden presentar un fenotipo más similar a un trastorno del asa con presentación antenatal con polihidramnios y poliuria fetal, o un fenotipo tipo Síndrome de Gitelman con hipomagnesemia e hipocalciuria. Además, es posible que exista una variabilidad interindividual en los mecanismos de compensación lo que podría explicar

también la heterogeneidad clínica en el Síndrome de Bartter Tipo III (179). Por otro lado, los pacientes con disfunción del canal de cloro CIC-Kb presentan una mayor hipocloremia y alcalosis metabólica que el resto de tipos de Síndrome de Bartter. Teniendo en cuenta que el canal de cloro CIC-Kb también se expresa en la membrana basolateral de las células intercaladas del túbulo colector, su defecto podría secundariamente dar lugar a una disfunción del intercambiador pendrina Cl/HCO₃ situado en la membrana apical empeorando la alcalosis metabólica y la hipocloremia en estos pacientes (179, 189).

c) Trastornos combinados de asa de Henle y del túbulo contorneado distal

En un tercer grupo están el Síndrome de Bartter Tipo IVa que se debe a un defecto en la subunidad Barttina, y el Tipo IVb secundario a un defecto de ambos canales del cloro CIC-Ka y CIC-Kb (71-73, 155, 166, 190). Teniendo en cuenta que los canales de cloro CIC-Kb están presentes en el segmento grueso del asa de Henle y en el túbulo contorneado distal, son trastornos que afectan a ambos segmentos (178). Ambas entidades, al igual que el Síndrome de Bartter Tipo I y Tipo II, se manifiestan también desde la etapa prenatal con un polihidramnios importante debido a la poliuria fetal, que frecuentemente conlleva un parto prematuro, con pérdidas renales excesivas de sal y de agua, debido a la hipersecreción de la PGE2 en la mácula densa. Por otro lado, ambos canales del cloro son esenciales para el transporte de iones en la *stria vascularis* del oído interno, por lo tanto, los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo IV asocian sordera neurosensorial (72, 73, 190, 191). Al igual que en el Síndrome de Bartter Tipo III, debido a los mecanismos de compensación de la pérdida de cloro a través de otros canales en el asa de Henle, la presencia de nefrocalcinosis e hipercalciuria es variable en estos pacientes. Igualmente, la hipokalemia, la alcalosis metabólica y la hipocloremia son más severos que en el resto de tipo antenatales de Síndrome de Bartter (189). Aunque son considerados los tipos de Síndrome de Bartter más severos con evolución más rápida hacia una enfermedad renal crónica, se ha observado que también existe heterogeneidad en la presentación clínica y que el pronóstico es variable (192). Por último, en este grupo también se clasifica el Síndrome de Bartter Tipo V, que se trata de una forma transitoria de Síndrome de Bartter antenatal secundaria a la disfunción de la proteína MAGED2. Estos pacientes presentarán un polihidramnios severo y a un parto prematuro con resolución

espontánea las primeras semanas de vida, generalmente alrededor de la fecha prevista para el parto a término (74, 154). La proteína MAGED2 se expresa en el asa de Henle y en el túbulo contorneado distal, y regula durante el periodo antenatal y neonatal la función de los cotransportadores Na-K-2Cl NKCC2 y Na-Cl NCC hasta que el mecanismo de transporte del sodio en el túbulo madura. Al igual que en el Síndrome de Bartter Tipo III y IV la presencia de hipercalciuria y nefrocalcinosis es variable.

Como se ha comentado previamente, existe una alta heterogeneidad clínica entre pacientes con la misma TPS. Igualmente, en muchas ocasiones, las distintas TPS son indistinguibles ya que similares. A continuación, en la Tabla 6 se resumen las características clínicas y bioquímicas más importantes de las principales TPS como el Síndrome de Bartter y Síndrome de Gitelman (162). En resumen, y por lo general, la edad de diagnóstico es más tardío en el Síndrome de Bartter Tipo III (antes de los 5 años de edad) y en el Síndrome de Gitelman (en la adolescencia o en la edad adulta) que en el resto de tipos de Síndrome de Bartter. Sin embargo, existen casos de Síndrome de Bartter Tipo I, Tipo II y Tipo IV con diagnóstico tardío, y casos de Síndrome de Gitelman con diagnóstico en los primeros años de vida (163, 179, 187, 193-197). En los tipos antenatales de Síndrome de Bartter, el polihidramnios suele detectarse entre la semana 20 y 30 de gestación, y suele ser más precoz en el Síndrome de Bartter Tipo I y Tipo II que en los Tipos IV y V (74, 154, 189, 198). La alcalosis metabólica, la hipokalemia y la hipocloremia son signos bioquímicos comunes en todos los tipos, aunque es más severa en el Síndrome de Bartter Tipo III. En este tipo de Síndrome de Bartter también se puede hallar una hipomagnesemia al igual que en los pacientes con Síndrome de Gitelman (179). Así mismo, en el Síndrome de Bartter Tipo II puede existir acidosis con hiperkalemia de manera transitoria en el periodo neonatal (199). Mientras que la hipercalciuria y la nefrocalcinosis son muy frecuentes en el Síndrome de Bartter Tipo I y Tipo II, su frecuencia es variable en los Tipos III, IV y V, y está ausente en el Síndrome de Gitelman (182, 189). Además, los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III pueden presentar hipocalciuria simulando un fenotipo Gitelman (179). La enfermedad renal crónica se ha descrito en todos los tipos de Síndrome de Bartter, salvo en el Tipo V que es un trastorno transitorio. Generalmente, se considera que el Tipo IV es el que peor pronóstico presenta con una evolución más rápida hacia una enfermedad renal crónica (179).

Tabla 6. Características clínicas y bioquímicas de las principales tubulopatías pierde sal. Modificado de Konrad et al (162).

Característica	S. Bartter I	S. Bartter II	S. Bartter III	S. Bartter IVa y IVb	S. Bartter V	S. Gitelman
Edad diagnóstico	Prenatal	Prenatal	0-5 años	Prenatal	Prenatal	Adolescente, adulto
Polihidramnios	Severo	Severo	Ausente o moderado	Severo	Muy severo	Ausente
Edad gestacional, semanas, mediana (P25-P75)	32 (29-34)	33 (31-35)	37 (36-41)	31 (28-35)	29 (31-37)	A término
Síntomas principales	Poliuria, hipocloremia, alcalosis, hipokalemia	Poliuria, hipocloremia, alcalosis, acidosis e hiperkalemia transitoria neonatal	Hipokalemia, hipocloremia y alcalosis severas, fallo de medro	Poliuria, hipocloremia y alcalosis severa, hipokalemia	Poliuria, hipocloremia, alcalosis, hipokalemia	Debilidad, calambres, avidez por la sal, astenia, polidipsia, parestesias, palpitaciones, hipokalemia, alcalosis, hipomagnesemia, hipocalciuria
Calciuria	Elevada	Elevada	Variable	Variable	Elevada	Baja
Nefrocalcinosis	Frecuente	Frecuente	Raro, moderado	Raro, moderado	Raro, moderado	Ausente
Otros	-	-	Hipomagnesemia, hipocalciuria	Sordera neurosensorial, riesgo alto de ERC	Grande para la EG, cuadro transitorio	-

S: Síndrome. ERC: Enfermedad renal crónica. EG: edad gestacional.

3. SÍNDROME DE BARTTER TIPO III

El Síndrome de Bartter Tipo III o Síndrome de Bartter Clásico, es secundario a variantes en el gen *CLCNKB* que codifica el canal de cloro ClC-Kb. Este canal está situado principalmente en la membrana basolateral del asa de Henle y del túbulo contorneado distal, aunque también se expresa en las células epiteliales del túbulo colector. En este apartado se explican los aspectos clínicos, el diagnóstico diferencial y el tratamiento en el Síndrome de Bartter Tipo III. Así mismo, se describen las características estructurales y funcionales del canal del cloro ClC-Kb, las características moleculares y la correlación genotipo-fenotipo del Síndrome de Bartter Tipo III.

3.1. Signos clínicos y alteraciones hidroelectrolíticas en el Síndrome de Bartter Tipo III

El Síndrome de Bartter Tipo III se caracteriza por su amplia heterogeneidad en la presentación clínica. Generalmente, se diagnostica en la primera infancia, antes de los 5 años de edad, sin polihidramnios ni clínica durante el periodo neonatal. El signo clínico más frecuente en estos pacientes es el fallo de medro asociado a poliuria y a polidipsia con alcalosis metabólica, hipokalemia e hipocloremia. Sin embargo, además del fenotipo clásico descrito, alrededor de un 30% de los pacientes presentan un fenotipo similar al Síndrome de Bartter antenatal (Tipo I, Tipo II, Tipo IVa, Tipo IVb) con polihidramnios y clínica severa desde el periodo antenatal o neonatal. No obstante, el polihidramnios suele desarrollarse de manera más tardía que en los tipos antenatales de Síndrome de Bartter, alrededor de las 28 semanas de gestación, por lo que la prevalencia de prematuridad en el Síndrome de Bartter Tipo III es más baja que en el resto de tipos. Por el contrario, alrededor de un 10% de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III presenta un fenotipo similar al Síndrome de Gitelman con presentación más tardía, hipocalciuria y/o hipomagnesemia (179, 187).

Al igual que en el resto de tipos de Síndrome de Bartter, la hipokalemia y la alcalosis metabólica es una de las características principales del Síndrome de Bartter Tipo III. Ambos son el reflejo del hiperaldosteronismo crónico de estos pacientes secundario a la contracción del volumen extracelular. Además, la hipokalemia crónica puede estar asociada a

complicaciones severas como temblor, calambres, parestesias, debilidad muscular, arritmias cardíacas, rhabdomiólisis, convulsiones e incluso a la muerte súbita en algunos casos, sobre todo cuando la kalemia se encuentra por debajo de 3 mEq/l (200-204). Por lo tanto, en los pacientes con Síndrome de Bartter es indispensable realizar un seguimiento cardiológico sobre todos en aquellos que presenten una hipokalemia sintomática (162).

Una de las características de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, frente a los tipos antenatales I y II, es la hipocloremia y la alcalosis metabólica severa que presentan (179, 189). Así mismo, en el Síndrome de Bartter Tipo IVa, donde existe una disfunción primaria de la subunidad Barttina necesaria para el funcionamiento del CIC-Kb, y el Síndrome de Bartter Tipo IVb donde existe una disfunción de ambos canales del cloro CIC-Ka y CIC-Kb, la hipocloremia es habitualmente menor que en el resto de tipos antenatales de Síndrome de Bartter (179, 189). Este hecho se ha atribuido, además de a la disfunción de los canales de cloro propias de la enfermedad, a la disminución secundaria del intercambiador Cl/HCO_3 denominado pendrina situada en las células intercaladas *beta* del túbulo colector, y a la disfunción del intercambiador $\text{AE1 Cl}/\text{HCO}_3$ expresada en las células intercaladas *alpha*, que empeoran la hipocloremia y la alcalosis metabólica en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III (85, 178, 190, 205).

En el Síndrome de Bartter Tipo III, la disfunción secundaria del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 situado en el asa de Henle da lugar a una disminución de la reabsorción paracelular del calcio, lo que aumentará la hipercalciuria favoreciendo el desarrollo de la nefrocalcinosis. Sin embargo, en las distintas series de pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, el porcentaje de pacientes con hipercalciuria es variable situándose entre un 10 y un 50%, y alrededor de un 15% desarrollan nefrocalcinosis a lo largo de la evolución de la enfermedad. (189, 193, 195). La variabilidad en la calciuria y en el desarrollo de nefrocalcinosis se ha atribuido a la variabilidad interindividual que podría existir en los mecanismos de compensación de la pérdida de cloro por orina en el asa de Henle a través de otros canales de cloro, como el CIC-Ka o el cotransportador KCl (166, 178, 206).

3.2. Diagnóstico diferencial del Síndrome de Bartter Tipo III

Dentro del diagnóstico diferencial del Síndrome de Bartter Tipo III se incluyen todas las tubulopatías pierde sal mencionadas previamente, incluyendo el resto de tipos de Síndrome de Bartter, así como otras patologías que pueden presentar clínica similar al Síndrome de Bartter. En la Tabla 7 se mencionan los principales patologías con las que se debe realizar un diagnóstico diferencial en el Síndrome de Bartter dependiendo el signo clínico principal. A continuación, se explican algunas de las patologías:

- **La diarrea clorada congénita** es una enfermedad autosómica recesiva secundaria a variantes en el gen *SLC26A3* (del inglés, *Solute Carrier Family 26 Member 3 gene*). Este gen codifica el intercambiador Cl/HCO_3 que se expresa en el epitelio del íleon y colon. Estos pacientes durante el embarazo suelen presentar polihidramnios, generalmente leve, asociado a una dilatación de asas intestinales a partir del segundo trimestre del embarazo. Además, en el periodo posnatal presentan una pérdida intestinal de cloro y de sodio, asociado a alcalosis metabólica e hipokalemia. En la orina de estos pacientes se suele observar niveles bajos de cloro (207).
- **El Síndrome de pseudo-Bartter** se define como una alcalosis metabólica hipoclorémica con hipokalemia en ausencia de tubulopatía (208). Un ejemplo es la Fibrosis Quística, que se debe a alteraciones de la proteína CFTR situada en la porción apical del epitelio de glándulas sudoríparas, pulmón, sistema digestivo, aparato reproductivo y túbulo colector regulando el transporte de sodio y cloro (209). En la Fibrosis Quística la pérdida excesiva de sodio, cloro y agua a través del sudor pueden condicionar deshidratación hiponatrémica e hipoclorémica, lo cual produce disminución del filtrado glomerular activando el sistema renina-angiotensina-aldosterona y dando lugar a una hipokalemia con alcalosis metabólica (210). En general, esta forma de presentación es rara y se ha descrito sobre todo en niños con Fibrosis Quística menores de dos años (208). En esta entidad, al contrario que en el Síndrome de Bartter, el cloro en orina está bajo.

Tabla 7. Diagnóstico diferencial en el Síndrome de Bartter Tipo III

Signos clínicos principales	Diagnóstico diferencial	Características clínicas
Síndrome de pseudo-Bartter: pérdidas extrarenales de sal, alcalosis e hipokalemia sin tubulopatía	<ul style="list-style-type: none"> - Diarrea clorada congénita - Fibrosis quística - Abuso de laxantes 	<ul style="list-style-type: none"> Dilatación asas intestinales, diarrea, cloro bajo en orina Cloro bajo en orina Cloro bajo en orina
Pérdida de sal por orina	Pseudohipoaldosteronismo Tipo I*	Acidosis metabólica, hiperkalemia
Pérdida de sal por orina aumentada con alcalosis metabólica e hipokalemia	<ul style="list-style-type: none"> - Síndrome de Gitelman - Nefropatía por <i>HNF1B</i> - Síndrome de <i>HELIX</i> - Síndrome de <i>EAST/SeSAME</i> - Hipocalcemia AD - Uso de diuréticos 	<ul style="list-style-type: none"> Hipocalciuria, Hipomagnesemia Malformación renal, quistes, MODY5, hipomagnesemia Hipercalcemia, hipohidrosis, ictiosis Ataxia, convulsiones, sordera, retraso mental Hipocalcemia, normo/hipercalcemia, Pérdida variable de cloro por orina
Alcalosis metabólica sin pérdida de sal por orina	<ul style="list-style-type: none"> - Hiperaldosteronismo Familiar - S. exceso de mineralocorticoides - Síndrome de Liddle 	<ul style="list-style-type: none"> Hipertensión, renina ↓ Hipertensión, renina/aldosterona ↓ Hipertensión, renina/aldosterona ↓
Nefrocalcinosis	<ul style="list-style-type: none"> - Acidosis Tubular Renal Distal - Hipomagnesemia Familiar con Hipercalcemia - S Exceso de Mineralocorticoides - Enfermedad de Dent 	<ul style="list-style-type: none"> Acidosis metabólica No alcalosis ni hipokalemia, ERC Hipertensión arterial, renina/aldosterona ↓ S. Fanconi, proteinuria tubular
Poliuria	- Diabetes Insípida Nefrogénica	No polihidramnios, polidipsia deshidratación, Osmolalidad orina baja
Polihidramnios	<ul style="list-style-type: none"> - Aneuploidias - Malformaciones gastrointestinales - Diarrea clorada congénita 	<ul style="list-style-type: none"> Cariotipo anormal Presentación variable Dilatación de asas intestinales

AD: autosómico dominante. ERC: enfermedad renal crónica. S: Síndrome. HNF1B: *hepatocyte nuclear factor 1 beta*. MODY5: *maturity onset diabetes of the young type 5*. HELIX: *hypohidrosis, electrolyte imbalance, lacrimal gland dysfunction, ichthyosis, xerostomia*. EAST/SeSAME: *epilepsy, ataxia, sensorineural deafness, tubulopathy/seizures, sensorineural deafness, ataxia, mental retardation, electrolyte imbalance*.

* Esta tubulopatía se explica en el apartado 1.4

Por otro lado, no se debe olvidar que el **abuso de laxantes, diuréticos y vómitos de repetición** presentes en los trastornos alimentarios pueden dar lugar a un Síndrome de pseudo-Bartter con alcalosis metabólica e hipokalemia. En el caso del abuso de laxantes y vómitos de repetición existe una pérdida extrarrenal de cloro por lo que el cloro en orina estará bajo. En el caso de abuso de diuréticos el cloro en orina será variable.

- **Otras tubulopatías o enfermedades renales:** en este grupo se encuentran otras patologías que cursan con natriuria elevada que pueden presentar clínica similar al Síndrome de Bartter con pérdida de sal por orina con alcalosis metabólica hipokalémica. En pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III que se diagnostican en adolescencia e incluso en la edad adulta, el diagnóstico diferencial debe realizarse con el **Síndrome de Gitelman**, patología en ocasiones indistinguible del Síndrome de Bartter Tipo III. Por otro lado, no se debe olvidar, que algunos pacientes con **nefropatía por variantes en el gen *HNF1B*** (del inglés, *hepatocyte nuclear factor 1 beta*) que presentan, entre otros, malformaciones renales, quistes renales, hiperuricemia, diabetes tipo MODY5 e hipomagnesemia, pueden presentar alcalosis metabólica hipokalémica por alteración de la transcripción de algunos transportadores tubulares a nivel distal (211). Además, otras tubulopatías en las que se puede observar una natriuria con alcalosis metabólica e hipokalemia son: el **Síndrome de HELIX** (del inglés, *Hypohidrosis. Electrolyte imbalance, Lacrimal gland dysfunction, Ichthyosis and Xerostomía*) debido a variantes en el gen *CLDN10* (del inglés, *Claudin 10*) (212, 213), el **Síndrome de EAST/SeSAME** (gen *KCNJ10*), y la **Hipocalcemia Autosómica Dominante** que es secundaria a variantes activantes en el gen receptor sensor del calcio *CASR*.
- El **Hiperaldosteronismo Familiar**, a diferencia del Síndrome de Bartter Tipo III, no existe una pérdida excesiva de sal por orina. Sin embargo, al igual que en Síndrome de Bartter Tipo III cursa con alcalosis metabólica e hipokalemia, además de una hipertensión arterial y una renina baja. Existen cuatro tipos: **1) Hiperaldosteronismo Familiar Tipo 1:** secundario a variantes en el gen *CYP11B1* (del inglés, *Cytochrome P450 Family 11 Subfamily B Member 1*), **2) Hiperaldosteronismo Familiar Tipo 2:** secundario a variantes en el gen *CLCN2* (del inglés, *Chloride Voltage-Gated Channel 2*

gene), **3)** Hiperaldosteronismo Familiar **Tipo 3**: secundario a variantes en el gen *KCNJ5* (del inglés, *Potassium voltage-gated Channel subfamily J Member 5 gene*), y **4)** Hiperaldosteronismo Familiar **Tipo 4**: secundario a variantes en el gen *CACNA1H* (del inglés, *Calcium voltage-gated Channel subunit Alpha1 H*). En este mismo grupo, se encuentran, el **Síndrome de exceso aparente de mineralocorticoides**, que se debe a variantes en el gen *HSD11B2* (del inglés, *Hydroxysteroid 11-Beta Dehydrogenase*), y el *SCNNIA*, *SCNNIB* y *SCNNIG*)

- La **Diabetes Insípida Nefrogénica** bien por mutaciones en el gen del receptor de la hormona antidiurética (gen *AVPR2*) o en el gen de la Aquaporina Tipo 2 (gen *AQP2*) es otra entidad a tener en cuenta dentro del diagnóstico diferencial. Los pacientes con Diabetes Insípida Nefrogénica habitualmente nacen a término con un peso normal y no presentan polihidramnios durante el embarazo. Aunque pueden presentar clínica de deshidratación desde el nacimiento, generalmente se diagnostican a lo largo del primer año de vida tras episodios de deshidratación severa con hipernatremia, estancamiento ponderoestatural, retraso psicomotor, poliuria-polidipsia importante. A diferencia del Síndrome de Bartter III, estos pacientes presentan una poliuria importante por pérdida de agua por orina, pero la natriuresis y la excreción de potasio en orina son normales (215). No debemos olvidar que sobre todo los tipos antenatales de Síndrome de Bartter Tipo I y II pueden presentar una Diabetes Insípida Nefrogénica Secundaria debido a que la hipersecreción de la PGE2 inhibe la acción de la hormona antidiurética empeorando la poliuria y la pérdida de sal (171-173).

- **Enfermedad de Dent:** La Enfermedad de Dent-1 es una tubulopatía secundaria a variantes en el gen *CLCN5* (del inglés, *Chloride Voltage-Gated Channel 5*) que codifica el canal del cloro ClC-5 (del inglés, *Chloride Channel 5*). Este canal controla la excitabilidad de su membrana, participa en el transporte transepitelial y en la acidificación de los endosomas. Estos canales están presentes predominantemente en el túbulo proximal, y en menor medida, en el túbulo colector y en el segmento grueso del asa de Henle (216). La Enfermedad de Dent-2 es secundaria a variantes en el gen *OCRL* (del inglés, *Oculocerebrorenal Syndrome gene*) que codifica la enzima inositol polifosfatasa-5 fosfatasa, necesaria para la regulación del transporte vesicular entre los compartimentos intracelulares y la membrana citoplasmática, así como para el remodelaje de la actina del citoesqueleto. Se expresa prácticamente en todos los tejidos, exceptuando las células hematopoyéticas. En la nefrona está presente en el glomérulo, en el túbulo proximal, rama gruesa ascendente, túbulo distal y túbulo colector (217, 218). La amplia expresión tanto del canal del cloro ClC-5 como del inositol polifosfatasa-5 fosfatasa a lo largo del túbulo puede explicar la variabilidad fenotípica observada en la Enfermedad de Dent, que puede ir desde un trastorno exclusivamente proximal hasta un trastorno mixto proximal y distal, incluyendo signos clínicos similares el Síndrome de Bartter, así como un deterioro de la acidificación distal de la orina (219-221). Los pacientes con Enfermedad de Dent-1, con la edad, pueden presentar hipokalemia con pérdidas renales de sodio y potasio por orina con un hiperaldosteronismo secundario, poliuria y bicarbonato normal en plasma. Por lo tanto, asociado a la hipercalciuria y nefrocalcinosis, pueden presentar una clínica que se asemeja al Síndrome de Bartter. Sin embargo, a diferencia del Síndrome de Bartter Tipo III, en la Enfermedad de Dent los pacientes presentan desde el inicio signos clínicos de Síndrome de Fanconi completo o incompleto dependiendo de la severidad en cada caso, y, además, una proteinuria de bajo peso molecular lo que podría ayudar a diferenciar una entidad de otra (222).
- **Otras tubulopatías que cursan con nefrocalcinosis.** Aparte del Síndrome de Exceso Aparente de Mineralocorticoides comentado previamente, en este grupo se encuentran la **Acidosis Tubular Renal Distal** (genes *SLC4A1*, *ATP6V0A4* y *ATP6V1B1*). Esta enfermedad, a diferencia del Síndrome de Bartter, cursa con acidosis metabólica. Por

otro lado, la **Hipomagnesemia Familiar con Hiper calciuria**, donde existen variantes en los genes que codifican las claudinas 16 y 19 (gen *CLDN16* y gen *CLDN19*) necesarias para la reabsorción de calcio y magnesio en el asa de Henle. Estos pacientes no presentan alcalosis metabólica ni hipokalemia y desarrollan una enfermedad renal crónica a largo plazo.

- Finalmente, no se deben olvidar otras malformaciones que se asocian a **polihidramnios** durante el embarazo como por ejemplo las aneuploidias, que presentarán un cariotipo anormal, y las malformaciones gastrointestinales como por ejemplo la atresia de esófago que tendrán una presentación clínica variable.

3.3. Tratamiento en el Síndrome de Bartter Tipo III

a) Tratamiento prenatal

Los embarazos con polihidramnios severo tienen un riesgo elevado de terminar en un parto prematuro con todas las complicaciones que ello conlleva (223). En algunos casos de tipos antenatales de Síndrome de Bartter se han empleado estrategias terapéuticas con el fin de reducir la cantidad de líquido amniótico como el amniodrenaje o la administración de antiinflamatorios no esteroideos a la madre durante el embarazo (224-226). Hasta la actualidad no existen casos de Síndrome de Bartter Tipo III en los que se hayan empleado estas terapias, probablemente debido al polihidramnios menos severo y más tardío con respecto a los tipos antenatales. No debemos olvidar los efectos secundarios derivados del amniodrenaje como la muerte fetal o la prematuridad en el 1,5-3% (227, 228). Así mismo, la administración de indometacina a la madre presenta riesgos en el feto como el cierre de *ductus* arterioso que ocurre en alrededor del 50% de los casos cuando se realiza en la semana 32 de gestación, o la enterocolitis necrotizante que presenta una incidencia del 17% de los neonatos nacidos prematuramente en la primera semana tras la exposición a la indometacina frente al 6% observado en los controles (229).

b) Tratamiento posnatal

El tratamiento del Síndrome de Bartter Tipo III se basa en la administración de suplementos orales de sodio y potasio, y en la inhibición de la función de la prostaglandina E2 mediante antiinflamatorios no esteroideos. El Síndrome de Bartter es una tubulopatía pierde sal donde la pérdida de sal es la responsable de la hipovolemia y de las alteraciones hidroelectrolíticas derivadas del hiperaldosteronismo crónico (5). Por lo tanto, el suplemento oral con cloruro sódico o la ingesta de sal en la alimentación y la hidratación con agua ayudan a mantener el volumen extracelular mejorando las alteraciones hidroeléctricas (230). Por otro lado, la prescripción de suplementos con cloruro potásico, además de aconsejar la ingesta de alimentos ricos en potasio, también es un pilar fundamental en el tratamiento del Síndrome de Bartter para evitar las complicaciones asociadas a la hipokalemia severa como la parálisis o las arritmias cardíacas (195). En general se recomienda mantener una kalemia alrededor de 3 mEq/l al igual que en el Síndrome de Gitelman (162, 182). Sin embargo, cabe recordar, que el potasio ingerido es excretado en orina en pocas horas y que puede presentar efectos secundarios como úlceras gástricas, vómitos o diarreas por lo que se deberá hallar el equilibrio entre el beneficio y los efectos secundarios ajustando la dosis en cada caso (5, 162). Por otro lado, en aquellos casos en los que exista una hipomagnesemia deben administrarse suplementos orales teniendo en cuenta que la hipomagnesemia puede agravar la hipokalemia (162).

Al igual que en el resto de tipos de Síndrome de Bartter, el uso de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), como los inhibidores de la acción de la prostaglandina E2, son un pilar fundamental en el tratamiento del Síndrome de Bartter Tipo III. En todos los tipos de Síndrome de Bartter se ha observado que la poliuria y las alteraciones hidroelectrolíticas, y en el caso de los niños, el crecimiento, mejoran tras el inicio de los AINEs (231-234). Los principales AINEs empleados son la indometacina (1-4 mg/kg/día dividido en 3 o 4 dosis), el ibuprofeno (15-30 mg/kg/día dividido en 3 dosis) y el celecoxib (2-10 mg/kg/día dividido en 3 dosis) (162). Los dos primeros inhiben de manera no selectiva tanto la enzima ciclooxigenasa tipo 1 (COX1) como la ciclooxigenasa tipo 2 (COX2), y el celecoxib es un inhibidor selectivo de la COX2. El empleo crónico de los inhibidores no selectivos como la indometacina y el ibuprofeno se han asociado a efectos secundarios gastrointestinales como úlceras gástricas o enterocolitis

necrotizante en los recién nacidos. Hasta un tercio de los pacientes con Síndrome de Bartter desarrollan úlcera gástrica o gastritis crónica en algún momento de la evolución (235, 236). Por lo tanto, es recomendable el uso de un protector gástrico junto a los AINEs como los inhibidores de la bomba de protones o los antagonistas H₂. A su vez, los inhibidores de la bomba de protones aumentan el riesgo de hipomagnesemia, por lo que deberá seleccionarse un protector gástrico u otro dependiendo de cada paciente (162, 237). Por otro lado, es conocida la relación entre el uso de AINEs y la nefrotoxicidad, sobre todo en los pacientes que reciben altas dosis por su efecto analgésico (238). Aunque en el Síndrome de Bartter Tipo III no se ha demostrado ninguna relación entre las alteraciones histológicas y el uso crónico de los AINEs, es recomendable su empleo con precaución siempre ajustando la dosis en cada paciente (239).

Por el contrario, los inhibidores selectivos de la COX2, en general presentan un menor riesgo de efectos secundarios gastrointestinales. Sin embargo, algunos fármacos como el rofecoxib presentan un riesgo aumentado de eventos cardiovasculares. Entre todos, el celecoxib ha demostrado ser el más seguro en este sentido (240). Existen pocos datos sobre el uso de los inhibidores de la COX2 en pediatría. En un estudio de pacientes reumatológicos, se ha observado que presentan menos efectos secundarios gastrointestinales que el naproxeno para tratar el dolor (241). Hasta la actualidad, aunque existen casos aislados de Síndrome de Bartter que han empleado los inhibidores de COX2 con éxito, su seguridad no está del todo demostrada (242). En un estudio se ha observado que los pacientes con Síndrome de Bartter en los que se emplea rofecoxib los pacientes presentan, aunque en rango normal, una tensión arterial elevada (242). Por tanto, se deben de tener en cuenta los riesgos específicos de cada fármaco e individualizar su uso a en cada paciente.

Algunos autores sugieren el uso de inhibidores del sistema renina-angiotensina-aldosterona o de diuréticos ahorradores de potasio para mejorar la kalemia (179, 195, 242-244). El Síndrome de Bartter es una tubulopatía pierde sal donde el mecanismo principal para mantener la volemia es el sistema renina-angiotensina-aldosterona. Por lo tanto, estos fármacos deben emplearse con precaución ya que pueden empeorar la natriuria y la hipovolemia, por lo que se deberá valorar su uso sobre todo en aquellos pacientes que presentan síntomas severos de hipokalemia como la parálisis o las arritmias, entre otros (245).

En el Síndrome de Bartter Tipo III se han descrito casos aislados de déficit de hormona de crecimiento. Se desconoce si el déficit de hormona de crecimiento es un trastorno intrínseco de la enfermedad, o si es secundario a las alteraciones metabólicas que ocurren en la enfermedad. Por un lado, la alcalosis metabólica y la hipokalemia severas en el Síndrome de Bartter Tipo III en comparación con otros tipos I y II se han relacionado con el retraso de crecimiento. En este sentido, también se ha sugerido que la hipersecreción de la prostaglandina E2 genera una resistencia a la acción de la hormona de crecimiento contribuyendo al retraso de crecimiento (195). En este sentido, previo al inicio del tratamiento con hormona se recomienda optimizar el control metabólico y mejorar, en la medida de lo posible, las alteraciones hidroelectrolíticas (162).

Finalmente, en general en el Síndrome de Bartter, la eficacia del uso de tiazidas con el fin de disminuir la calciuria no está demostrada. Además, teniendo en cuenta la fisiopatología del Síndrome de Bartter, donde la hipertrofia compensadora del resto de segmentos es necesaria para compensar la pérdida de sal por orina, no tiene sentido prescribir este fármaco. Así mismo, concretamente en el Síndrome de Bartter Tipo III, donde existe también una disfunción del túbulo contorneado distal, la función del canal Na-Cl NCC estará también inhibida por lo que estos diuréticos no realizarán su función en este segmento. Por lo tanto, su empleo no se aconseja en ningún tipo de Síndrome de Bartter (162).

3.4. Estructura y función del canal de cloro ClC-Kb

En el Síndrome de Bartter Tipo III existe un defecto en el canal del cloro ClC-Kb. Este canal pertenece a la familia de los canales de cloro ClC que fue descrita por primera vez por Jentsch y colaboradores (246). Varios canales de esta familia dan lugar a diversas enfermedades hereditarias como el Síndrome de Dent (ClC-5), la osteopetrosis (ClC-7) o el propio Síndrome de Bartter Tipo III (ClC-Kb) (247, 248).

Los canales ClC están formados por dos subunidades o poros proteicos (monómeros) situados perpendiculares a la membrana plasmática formando un dímero. Cada subunidad consta de 18 hélices *alfa* (A-R) formada por dos mitades orientadas de manera antiparalela (hélices *alfa* A-I

y hélices alfa *J-R*). Además, cada monómero forma su propio e independiente poro (protoporo) realizando el transporte del cloro de manera independientemente. Sin embargo, ambas subunidades tienen una superficie de contacto entre ellas, denominado interfase, que se sitúa en la membrana plasmática y es necesaria para el correcto funcionamiento de los monómeros. Esta zona de interfase está constituida por las hélices *alfa G* y *H*. El canal CIC-Kb es sensible al calcio extracelular, de forma que cuando este catión se une a las zonas de unión en el canal, facilita su activación y apertura aumentando la conductancia del cloro. Por otro lado, las dos mitades de cada subunidad envuelven un centro común con el fin de reunir a los aminoácidos de los extremos de las hélices *alfa* creando un gradiente electrostático positivo para el paso del cloro (249, 250). Además, cada monómero consta de una región amino y carboxilo terminal que se sitúan dentro de la célula de manera antiparalela con respecto a las dos subunidades. En la región carboxilo terminal existen dos dominios CBS (del inglés, *Cystathionine-Beta-Synthase*). Entre ambos dominios CBS existe una hendidura donde se encuentra el aminoácido aspartato o la asparagina.

Aunque su función aún no está clara, se cree que los dominios CBS pueden ser un punto de unión para los ligandos implicados en el transporte del cloro desde el citoplasma hacia la membrana para su posterior activación o apertura (251, 252). Entre ambas mitades de cada poro existen tres puntos de unión del cloro: *Stint*, *Scen* y *Sext*. Los nombres de estos puntos de unión se corresponden a sus posiciones dentro de la membrana. Mientras que *Sint* está expuesto al fluido intracelular, *Scen* está dentro de la membrana o en el centro del poro, y *Sext* está expuesto al fluido extracelular. Cada sitio de unión recoge a diferentes moléculas de cloro simultáneamente. Estos aniones no compiten entre sí, cada carga negativa ejerce una fuerza de repulsión hacia el resto de cargas negativas. Esta fuerza de repulsión es la que permite una alta conductancia del cloro a través de los canales CIC (253, 254) (Figura 16 y Figura 17).

Los canales CIC se localizan principalmente en el riñón. Existen dos isoformas, el CIC-Ka (gen *CLCNKA*) y el CIC-Kb (gen *CLCNKB*) que presentan una alta homología entre ellas. Ambos genes están situados en el cromosoma 1p36 separados por tan solo 9,727 kb de secuencia (255). El canal CIC-Kb y, en menor medida, el canal CIC-Ka, permite la reabsorción basolateral del cloro en el asa de Henle, en el túbulo contorneado distal y en el túbulo colector gracias al gradiente electroquímico generado por el resto de transportadores en el mismo segmento, y

precisan de la subunidad Barttina para su buen funcionamiento (178, 248, 256). Por otro lado, tanto los canales de cloro como la Barttina se expresan en el oído interno concretamente en la membrana basolateral de la *Stria vascularis* y en las células del órgano vestibular (72).

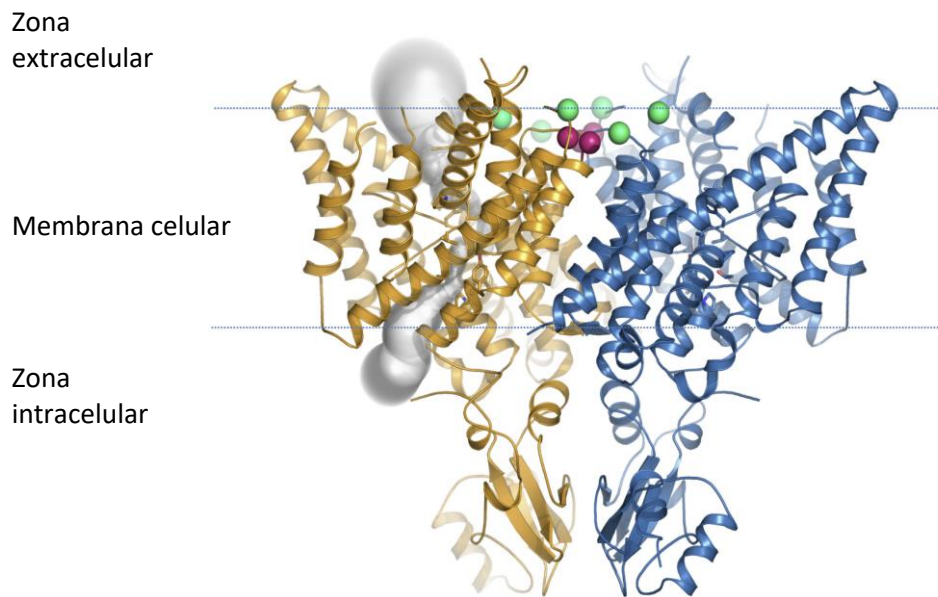


Fig. 16. Representación de la estructura dimérica del canal ClC-Kb hallado en el alga *Cyanidioschyzon merolae*.

La membrana de la célula se representa con línea discontinua. Los monómeros están representados en color naranja y azul. Las esferas blancas representan a los poros permeables para el cloro. En el lado extracelular las esferas verdes y moradas muestran los puntos de unión del calcio e hidrogeniones, respectivamente (178).

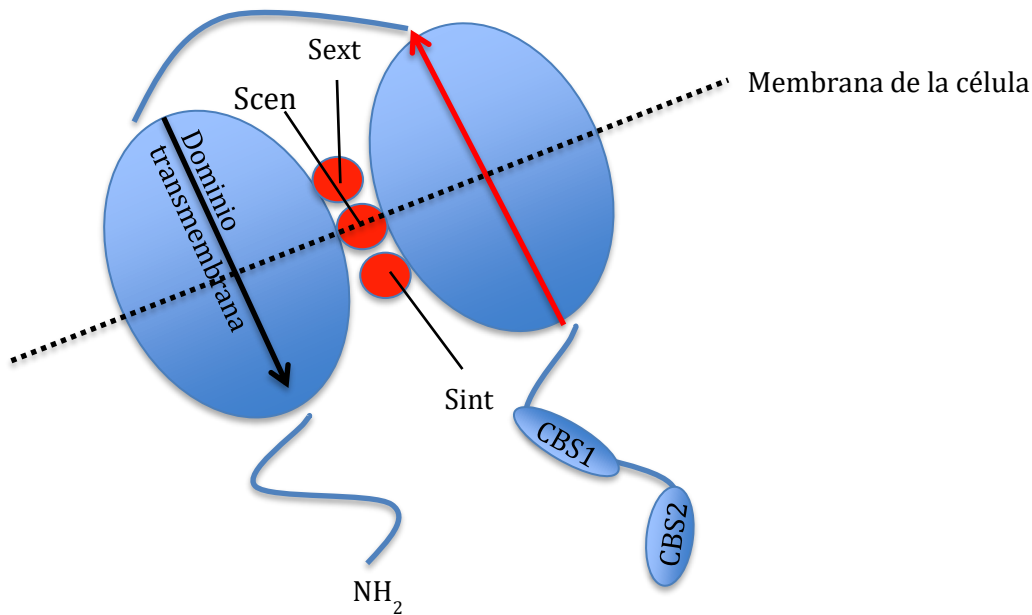


Fig. 17. Representación esquemática de un monómero del canal de cloro CIC-Kb.

Dos monómeros similares forman el canal CIC-Kb. Las flechas indican la orientación que presentan en la membrana de la célula. Se observan los puntos de unión del cloro (*Sint*, *Sext*, *Stent*): *Sint* está expuesto al fluido intracelular, *Scen* está dentro de la membrana o en el centro del poro y *Sext* está expuesto al fluido extracelular. Cada sitio de unión recoge a diferentes moléculas de cloro simultáneamente. Cada monómero tiene una región amino y una región carboxilo terminal. En este último se encuentran los dominios CBS 1 y CBS 2 (del inglés, *Cystathionine-Beta-Synthase type 1 and type 2*). Aunque la función de los dominios CBS no está clara, se cree pueden ser un punto de unión para los ligandos implicados en el transporte del cloro desde el citoplasma hacia la membrana la posterior activación o apertura del canal CIC-Kb.

3.5. Características moleculares en el Síndrome de Bartter Tipo III. Correlación genotipo-fenotipo en el Síndrome de Bartter Tipo III

El gen *CLCNKB* (OMIM *602023) consta de una secuencia nucleotídica formada por 13.557 pb y presenta un total de 20 exones, de los cuales 19 codifican para el canal del cloro CIC-Kb. Está situado en el cromosoma 1p36.13 (brazo corto), en la posición 16,043,777 - 16,057,308) de la hebra principal. La proteína que codifica, el canal de cloro CIC-Kb, contiene 687 aminoácidos (<http://www.ensembl.org>) (Figura 18). En el Anexo 1 se muestra la secuencia del promotor y del gen *CLCNKB*, transcrito ENST00000375679.9 tomado de la base de datos Ensembl [<http://www.ensembl.org>].

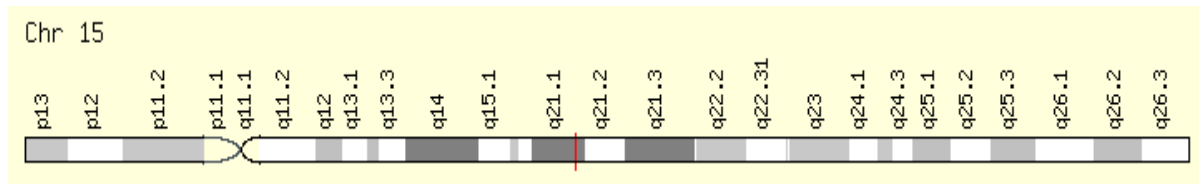


Fig. 18. Representación del gen *CLCNKB* en el cromosoma 1

Las primeras variantes en el gen *CLCNKB* se describieron en el año 1997 y la mayoría de ellas eran grandes deleciones (70). En los últimos trabajos que describen pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III se ha observado que la variante más frecuente es la *missense* (179). Actualmente, según la *Human Gene Mutation Database (HGMD)* existen al menos 187 variantes patogénicas que incluyen grandes o pequeñas deleciones, variantes *frameshift*, *nonsense/missense* o mutaciones del *splicing*. En la población española la variante patogénica más frecuente es la *missense* c.610G>A; p.Ala204Thr sugiriendo un efecto fundador (257, 258). Por otro lado, en la mayoría de pacientes de procedencia africana y de Oriente se ha observado una predominancia de grandes deleciones (70), (259). Por último, en una cohorte de 26 pacientes Coreanos con Síndrome de Bartter Tipo III se ha observado que la variante patogénica más frecuente es la *nonsense* p.W610X (194).

En el Síndrome de Bartter Tipo III, se ha estudiado la correlación genotipo-fenotipo basándose en los estudios funcionales del canal del cloro CIC-Kb. Mediante estos estudios se clasifican las variantes en función de su expresión en la membrana plasmática o en la conductancia residual de la proteína (164, 260, 261). Hasta la actualidad, se ha observado que aquellos pacientes con variantes que dan lugar a una disminución severa de la conductancia del canal del cloro presentan una clínica más severa y precoz, asemejándose a lo tipos antenatales de Síndrome de Bartter. Sin embargo, no se ha observado ninguna correlación genotipo-fenotipo en cuanto a las alteraciones hidroelectrolíticas, con la excepción de que los pacientes con un genotipo más severo, con mayor disfunción de la función del canal cloro, presentan una hipocloremia más grave (179).

La variante española p.Ala204Thr es una variante que prácticamente no modifica la expresión en la membrana de la proteína CIC-Kb (260). Además, la disminución de la conductancia del cloro es más leve comparando con las variantes más severas como las grandes deleciones, con una conductancia residual de alrededor del 20-40% (164, 260). Sin embargo, a pesar de tratarse de una variante menos severa que, por ejemplo, las grandes deleciones, en un trabajo publicado por nuestro grupo de enfermedades renales raras y hereditarias del IIS Biocruces Bizkaia se observó que alrededor de un 30% de los pacientes presentaron un fenotipo severo antenatal (196). Además, en otros trabajos se ha observado que pacientes que presentan tipos de variantes muy severas, como las grandes deleciones que anulan por completo la función de la proteína, presentan un fenotipo clínico más leve similares al Síndrome de Gitelman (179). Así mismo, incluso pacientes que pertenecen a la misma familia, y que presentan las mismas variantes en el gen *CLCNKB*, tienen formas de presentación clínicas diferentes (179). Por lo tanto, en general, se ha observado una escasa correlación genotipo-fenotipo en el Síndrome de Bartter Tipo III.

3.6. Evolución a largo plazo del Síndrome de Bartter Tipo III

El pronóstico del Síndrome de Bartter es muy variable de unos pacientes a otros. En todos los tipos, salvo en el Tipo V, se han descrito casos de enfermedad renal crónica a largo plazo. Globalmente, se considera que los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo I y Tipo IV presentan una evolución más rápida hacia una enfermedad renal crónica que los pacientes con Tipo II y Tipo III (179). Concretamente en el Síndrome de Bartter Tipo III alrededor de un tercio de los pacientes desarrollan enfermedad renal crónica tras una mediana de tiempo de evolución de 8 años (179, 193). También se han reportado casos que asocian proteinuria con lesiones de nefritis tubulointersticial y esclerosis glomerular focal y segmentaria, sobre todo en pacientes con un deterioro renal avanzado (179, 193, 195). En la literatura existen casos aislados de Síndrome de Bartter en los que se ha realizado un trasplante renal entre los 11 y 27 años. Aunque existen pocos datos al respecto, en todos los casos se ha observado la reversión de las alteraciones hidroelectrolíticas sin presentar recurrencia de la enfermedad (262-266).

En estudios previos se ha considerado que la etiología de la enfermedad renal crónica a largo plazo en el Síndrome de Bartter es multifactorial. Por un lado, el estado de deshidratación y el hiperaldosteronismo crónico se han considerado un factor de riesgo implicado en la evolución a largo plazo en el Síndrome de Bartter Tipo III (267-269). Aunque algunos autores relacionan la hipokalemia con la enfermedad renal crónica, en un trabajo no se halló ninguna correlación entre la kalemia y el filtrado glomerular de los pacientes con Síndrome de Bartter y Síndrome de Gitelman (179, 270). Por otro lado, el uso crónico de AINEs tiene como efecto secundario la nefrotoxicidad. Algunos estudios demuestran que la exposición crónica sobre todo a dosis altas de AINEs dan lugar a necrosis papilar y al desarrollo de enfermedad renal crónica (271-273). Aunque este efecto no se ha demostrado específicamente en las tubulopatías pierde sal, se debe tener en cuenta a la hora de valorar la función renal de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III. Así mismo, la nefrocalcinosis se ha asociado con el desarrollo de la enfermedad renal crónica en muchas tubulopatías primarias. No obstante, hasta la actualidad no se ha demostrado claramente su implicación en el pronóstico a largo plazo en el Síndrome de Bartter Tipo III. Además, en los tipos antenatales de Síndrome de Bartter, donde la nefrocalcinosis es frecuente y precoz, la evolución hacia enfermedad renal crónica es muy variable de unos pacientes a otros (199). Por último, la prematuridad también se ha asociado con mayor riesgo de enfermedad renal crónica a largo plazo (274, 275).

Por lo tanto, aunque en ningún estudio se ha hallado una relación directa entre los distintos factores mencionados arriba y el desarrollo de la enfermedad renal crónica, se ha sugerido que todos estos factores, en conjunto, podrían estar relacionados con el pronóstico de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III.

II. HIPÓTESIS

El Síndrome de Bartter Tipo III se caracteriza por su amplia heterogeneidad en la presentación clínica. Generalmente se diagnostica en la primera infancia sin polihidramnios y sin síntomas durante el periodo neonatal. Sin embargo, un porcentaje de los pacientes presentan un fenotipo clínico distinto asemejándose a los tipos antenatales del Síndrome de Bartter (Tipo I, II, IVa y IVb) o al Síndrome de Gitelman.

Actualmente existen pocos datos sobre la evolución clínica a largo plazo del Síndrome de Bartter Tipo III, así como sobre los factores relacionados con el pronóstico. Aunque clásicamente se ha considerado una enfermedad de buen pronóstico, se estima que un porcentaje de los pacientes desarrollarán enfermedad renal crónica. Así mismo, se cree que la etiología de la enfermedad renal crónica es multifactorial, donde tanto mecanismos fisiopatológicos como las características moleculares podrán estar implicados.

Los estudios en pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III realizados hasta el momento han hallado una escasa correlación genotipo-fenotipo. Aunque generalmente las variantes genéticas que producen alteraciones más graves en la función del canal CIC-Kb presentan un fenotipo clínico de presentación más severo, no todas necesariamente presentan un peor pronóstico. La variante más frecuentemente hallada en la población española con Síndrome de Bartter Tipo III es la p.Ala204Thr y se considera que estos pacientes presentan globalmente un pronóstico benigno a largo plazo.

En este contexto, se formulan cuatro hipótesis para conocer la evolución a largo plazo de los pacientes con Síndrome de Bartter III e identificar los factores de riesgo relacionados con el pronóstico. La primera hipótesis propone que los pacientes que se diagnostican en los primeros años de vida presentan un fenotipo clínico de presentación más grave que los pacientes que se diagnostican más tarde en la infancia o en la edad adulta. La segunda hipótesis plantea que un diagnóstico tardío de la enfermedad conlleva un peor pronóstico, con mayor riesgo de desarrollar enfermedad renal crónica a largo plazo. La tercera hipótesis se fundamenta en que las alteraciones hidroelectrolíticas podrían estar relacionadas con el desarrollo de enfermedad renal crónica y con el retraso crecimiento a largo plazo. En cuarto lugar, la correlación genotipo-fenotipo es escasa en el Síndrome de Bartter Tipo III y un porcentaje no desdeñable de pacientes con la variante española p.Ala204Thr en homocigosis presentan mal pronóstico.

III. OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Conocer la evolución clínica de una serie de pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Describir las características clínicas y analíticas de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III al diagnóstico de la enfermedad y definir los distintos fenotipos clínicos de presentación. Así mismo, comparar las características clínicas de los distintos fenotipos clínicos de presentación.
- b) Conocer las características clínicas y analíticas de los pacientes a largo plazo y compararlas con las del diagnóstico.
- c) Analizar el desarrollo ponderoestatural y la evolución de la función renal de los pacientes a largo plazo, así como estudiar los posibles factores relacionados con el retraso ponderoestatural y la enfermedad renal crónica.
- d) Comparar el tratamiento que recibían los pacientes al diagnóstico y al final del estudio, así como sus efectos secundarios.
- e) Describir las características moleculares de la cohorte y analizar la correlación genotipo-fenotipo.
- f) Analizar la evolución clínica de los pacientes con la variante p.Ala2014Thr en homocigosis.
- g) Describir las complicaciones que ocurren a lo largo del embarazo de las mujeres con Síndrome de Bartter Tipo III

IV. POBLACIÓN Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de cohorte retrospectivo de pacientes diagnosticados molecularmente de Síndrome de Bartter Tipo III entre los años 1996 y 2018. A continuación, se presenta la población estudiada, sus características clínicas y la metodología utilizada para el análisis molecular del gen *CLCNKB*, así como los resultados moleculares. Por último, se describe la metodología estadística empleada para el análisis descriptivo y comparativo de los datos, así como las limitaciones y los aspectos éticos del trabajo.

1. POBLACIÓN

La cohorte estudiada estuvo constituida por 49 pacientes procedentes de 44 familias, con diagnóstico de Síndrome de Bartter Tipo III. Todos los pacientes fueron referidos al Instituto de Investigación Sanitaria Biocruces Bizkaia (IIS Biocruces Bizkaia) con sospecha clínica de Síndrome de Bartter Tipo III para realización del estudio molecular del gen *CLCNKB*.

Entre los 49 pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, el 60% fueron remitidos a través del portal Renaltube para estudio molecular. El resto de pacientes, al tratarse de casos previos a la creación del portal, fueron remitidos desde el hospital de origen, previo contacto con el grupo de investigación de Enfermedades Renales Hereditarias y Raras del IIS Biocruces Bizkaia. Renaltube (www.renaltube.com) es una iniciativa colectiva que nació en el año 2009 y está formada actualmente por cuatro grupos de investigación de los siguientes centros: Hospital Universitario Central de Asturias, Hospital Universitario Cruces de Barakaldo, Hospital Nuestra Señora de Candelaria en Santa Cruz de Tenerife y Hospital Universitario Vall d'Hebron en Barcelona. El objetivo de este portal es reunir pacientes con tubulopatías primarias para desarrollar el estudio clínico y molecular, para así fomentar el conocimiento de su historia natural y de los diversos aspectos clínicos y moleculares que caracterizan a estas patologías raras.

Previa a la realización del estudio genético, se llevaron a cabo reuniones multidisciplinares para valorar la clínica de los pacientes cuyas muestras se remitían para estudio genético por sospecha de tubulopatía primaria. Los pacientes con sospecha de Síndrome de Bartter presentaron hipopotasemia, pérdida salina a través de la orina, alcalosis metabólica y elevación

de renina y aldosterona. Se solicitó en todos los casos al médico responsable del centro remitente el envío del consentimiento informado junto a la muestra. El estudio genético se realizó también a ambos progenitores de cada paciente siempre que la muestra estuviera disponible.

El estudio molecular fue realizado en muestras de sangre, a partir de la extracción de ADN en el Laboratorio de Genética Molecular del IIS Biocruces Bizkaia. Las muestras fueron remitidas desde hospitales de diversas comunidades autónomas de España (Comunidad Autónoma Vasca, Navarra, Madrid, Andalucía, Galicia, Cataluña, Castilla La Mancha, Valencia, Islas Canarias) y de otros países de Europa y América (Grecia, Perú, Argentina y Brasil). Se enviaron desde los servicios de Nefrología y de Nefrología Infantil (ver médicos de cada centro remitente en el Anexo 2).

2. METODOLOGÍA

En este apartado se describe la información clínica recogida de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III. Así mismo, se explica la metodología del análisis molecular del gen *CLCNKB*, el análisis estadístico realizado, los aspectos éticos y las limitaciones de este estudio.

2.1. Información clínica al diagnóstico de la enfermedad y al final del estudio

Se recogieron los datos clínicos y analíticos que presentaron los pacientes en el momento de la sospecha diagnóstica (previo al inicio de tratamiento) y al final del estudio. La información clínica del momento diagnóstico de los pacientes se obtuvo a través de la hoja de registro creada por el portal Renaltube (Anexo 3) o de un informe clínico enviado desde el hospital de origen al IIS Biocruces Bizkaia. Para conocer la evolución a largo plazo de los pacientes, se elaboró otra hoja de registro (Anexo 4) que se envió al médico responsable de cada paciente previo contacto por correo electrónico o por teléfono. A continuación, se explican las distintas variables que se han recogido para realizar el estudio.

- **Datos demográficos:**

- Código del paciente
- Sexo
- Fecha de nacimiento
- Etnia
- País de procedencia
- Consanguinidad entre los padres

- **Historia pre/perinatal:**

Se recogieron datos de la historia pre y perinatal referidos por el médico responsable:

- 1. Cantidad de líquido amniótico:** Este parámetro fue valorado de manera clínica por el ginecólogo que realizó la ecografía prenatal y se dividieron los hallazgos en cantidad normal o polihidramnios (aumento de cantidad de líquido amniótico). Así mismo, también se recogió si precisaron amniodrenaje o si se administró indometacina a la madre durante el embarazo.
- 2. Ecografía renal prenatal:** dentro de la ecografía prenatal se valoró la normalidad del tamaño renal. Este parámetro fue valorado por el ginecólogo que realizó la ecografía en cada caso y se dividieron los hallazgos en normal/anormal.
- 3. Otros datos perinatales:** la edad gestacional al nacimiento considerando prematuro en general al recién nacido por debajo de las 37 semanas de gestación. Dentro de los recién nacidos prematuros dividimos los pacientes en: extremadamente prematuro (≤ 28 semanas), muy prematuro (29 - < 32 semanas), moderadamente prematuro (32 - < 34 semanas) y prematuro tardío (34 - < 37 semanas) (276). Se obtuvo el peso de recién nacido (gramos) y talla (cm) con los percentiles correspondientes según la edad gestacional. Se definió pequeño para edad gestacional aquel recién nacido cuyo peso y/o longitud se encuentran por debajo del percentil 3 de la medida establecida para su población de referencia, sexo y edad gestacional (277, 278).

- **VARIABLES CLÍNICAS:**

Se recogieron las siguientes variables clínicas:

1. **Edad** al diagnóstico y al final del estudio. Se consideraron pacientes pediátricos aquellos que tenían < 18 años y pacientes adultos aquellos que eran \geq 18 años.
2. **Signos clínicos:** se describieron los signos clínicos que presentaron los pacientes en el momento del diagnóstico clínico recogidos a partir de la anamnesis y de la exploración física realizada por el médico referente: retraso ponderoestatural, hipotonía y/o debilidad muscular, astenia, calambres, polidipsia, poliuria, signos clínicos de deshidratación (mucosas secas, ojos hundidos, irritabilidad), vómitos y estreñimiento. Así mismo, se recogieron otros síntomas relacionados con el retraso psicomotor o los trastornos psiquiátricos que presentaron los pacientes a lo largo de la evolución. En los casos en los que obtuvimos un dato objetivo de diuresis, se consideró poliuria cuando la diuresis excedía de 3 litros/día en adultos (279) y, en los casos pediátricos, se valoró la diuresis según los siguientes valores de referencia por edad (Tabla 8).

Tabla 8. Valores normales de diuresis. Modificado de Barakat AY (280)

	Edad	Volumen (ml/día)
Recién nacido	1-2 días	15-60
	4-12 días	100-300
	15-60 días	250-450
Lactante	6-12 m	400-600
Niño mayor	2-4 años	500-750
	6-7 años	650-1000
	8-19 años	700-1500

- 3. Crecimiento:** se recogieron el peso (kg) y talla (cm) en el momento diagnóstico y al final del estudio en todos los pacientes. En los casos pediátricos, los valores de peso se interpretaron mediante las curvas y las tablas de crecimiento de la Fundación Orbegozo (281). Se calculó el *z-score* del peso en todos los casos pediátricos mediante la fórmula $Z=X-M/DE$, donde X es el valor de la variable cuya puntuación Z se pretende calcular, M es la media de dicha variable para el grupo de edad y sexo, y DE es la desviación estándar de la variable en cuestión, para la misma edad y sexo. El *z-score* se expresó en términos de desviaciones estándar de la media. Se consideró que tenían un peso patológico cuando el *z-score* era igual o menor de $-2DE$. En los pacientes adultos, los valores de peso se interpretaron mediante el índice de masas corporal (IMC) que se calculó con la siguiente fórmula: peso [kg]/ estatura [m²]. Se clasificaron los pacientes en cuatro grupos según el IMC: **1)** Peso inferior a la normalidad (IMC < 18,5 kg/m²), **2)** Peso normal (IMC 18,5-24,9 kg/m²), **3)** Peso superior a la normalidad o sobrepeso (IMC 25-29,9 kg/m²), y **4)** Obesidad (IMC > 30 kg/m²).

Al igual que con el peso, la talla de los pacientes pediátricos se interpretó mediante las curvas y tablas de crecimiento de la Fundación Orbegozo. Los valores de talla en el adulto se interpretaron empleando como referencia la talla media de la población en cada sexo (cm): en hombres 175,6 cm ($\pm 6,04$) y en mujeres 161,26 cm ($\pm 5,72$) (282). En todos los casos, pediátricos y adultos, se calculó el *z-score* de talla con la misma fórmula comentada en el párrafo anterior ($Z=X-M/DE$). Se consideró que los pacientes pediátricos y adultos tenían una talla patológica cuando el *z-score* fue igual o menor de $-2 DE$. Así mismo, en los casos en los que estuvo disponible, se recogió la talla de los padres (cm) para conocer si los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III alcanzaron la talla genética (Talla diana varón= talla del padre + talla de la madre + 13/2; Talla diana mujer = talla del padre + talla de la madre -13/2) (283).

La evolución del peso y de la talla a lo largo de la evolución de la enfermedad se evaluó solamente en los casos pediátricos por el potencial de crecimiento que presentan, comparando el peso y talla al diagnóstico con el peso y la talla al final del estudio. Consideramos como tiempo idóneo para la mejoría de peso y talla el haber recibido tratamiento durante al menos dos años. Por lo tanto, para conocer la evolución del peso y

de la talla a largo plazo en los pacientes pediátricos de nuestra cohorte se seleccionaron aquellos que cumplieran los siguientes criterios: **a)** Pacientes que tenían un tiempo de seguimiento igual o mayor de 2 años, y **b)** Pacientes en los que obtuvimos datos de peso y de talla tanto al diagnóstico como al final del estudio. Por último, se analizaron los factores que podrían estar relacionados con un peso bajo en los pacientes pediátricos. Para ello se dividieron los pacientes en dos grupos: **a)** Pacientes pediátricos que al final del estudio tenían un *z-score* de peso ≤ -2 DE al final del estudio, y **b)** Pacientes pediátricos con un *z-score* de peso > -2 DE al final del estudio. Por otro lado, se analizaron los factores que podrían estar relacionados con la talla baja final tanto en los pacientes pediátricos como en los adultos. Para ello, se dividieron los pacientes (niños y adultos) en dos grupos: **a)** Pacientes con un *z-score* de talla ≤ -2 DE al final del estudio, y **b)** Pacientes con un *z-score* de talla > -2 DE al final del estudio.

4. Tensión arterial al diagnóstico y al final: en los pacientes pediátricos la tensión arterial se interpretó según edad, sexo y talla. Se consideró hipotensión cuando la tensión arterial estuvo por debajo del percentil 5 en los niños pequeños, o por debajo de 90/50 mmHg en los niños mayores de 10 años (284, 285). En los pacientes adultos, se definió hipotensión cuando la tensión arterial fue menor de 90/60 mmHg (286).

5. Características bioquímicas en plasma al diagnóstico y al final del estudio:

a) Se recogieron los valores de creatinina (mg/dl), urea (mg/dl), sodio (mEq/l), potasio (mEq/l), cloro (mEq/), calcio (mg/dl), magnesio (mg/dl), bicarbonato (mEq/l), renina (unidades según el laboratorio de referencia) y aldosterona (unidades según el laboratorio de referencia).

b) Para el análisis de estos datos se aplicaron las siguientes definiciones de normalidad:

- Potasio: se consideró una kalemia normal cuando los valores de potasio en plasma se encontraban entre 3,5 y 4,5 mEq/l. Consideramos hipopotasemia cuando la kalemia fue igual o menor de 3,5 mEq/l.

- Sodio: se consideró una natremia normal cuando los valores de sodio en plasma se encontraban entre 135 y 145 mEq/l. Consideramos hiponatremia cuando la natremia fue menor de 135 mEq/l.
- Cloro: se consideró una cloremia normal cuando los valores de cloro en plasma se encontraban entre 95 y 105 mEq/l. Consideramos hipocloremia cuando la cloremia fue igual o menor de 95 mEq/l.
- pH y bicarbonato: se consideró un valor de pH en plasma normal cuando se encontraba entre 7,35 y 7,45. Se consideró que el bicarbonato en plasma era normal entre 16 y 18 mEq/l en el recién nacido pretérmino; entre 16 y 22 mEq/l en el recién nacido a término; entre 18 y 22 mEq/l en niños entre 0 y 2 años; entre 22 y 24 mEq/l en pacientes entre 2 y 18 años; y entre 24 y 26 mEq/l en pacientes igual o mayores de 18 años. Se consideró alcalosis metabólica cuando el pH en plasma era mayor de 7,45 con valores de bicarbonato en plasma por encima del rango de normalidad para cada edad (287).
- Magnesio en plasma: se consideró una magnesemia normal cuando el magnesio en plasma se encontraba entre 1,2 y 2,2 mg/dl en el recién nacido; y cuando se encontraba entre 1,6 y 2,5 mg/dl en niños y adultos. Se consideró que el paciente presentaba una hipomagnesemia cuando los valores de magnesio se encontraban por debajo de 1,2 mg/dl en el recién nacido, y por debajo de 1,6 mg/dl en el niño y en el adulto.
- Calcio total en plasma: se consideró que valores de calcio en plasma eran normales cuando se encontraban entre 7,6 y 10,5 mg/dl en el recién nacido; y entre 8,5 y 10 mg/dl en niños y adultos. Consideramos hipocalcemia con valores de calcio total estaban por debajo de 7,6 mg/dl en el recién nacido, y por debajo de 8,5 mg/dl en el niño y en el adulto. Se consideró hipercalcemia cuando su valor en plasma era superior al valor de normalidad.

- c) Se obtuvo el valor del Filtrado Glomerular Estimado (FGE) según fórmula de Schwartz en los niños mayores de 1 año, y mediante CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*) en los adultos (288, 289). Se definió enfermedad renal crónica (ERC) en niños y adultos cuando los pacientes que presentan durante un periodo mayor de 3 meses un FGE < 60 ml/min/1,73 m², o presentan un FGE mayor de 60 ml/min/1,73 m² asociado a la presencia de marcadores de daño renal (albuminuria aumentada, anomalías del sedimento urinario, anomalías electrolíticas u otras anomalías debidas a trastornos tubulares, anomalías detectadas histológicamente, anomalías estructurales detectadas con pruebas de imagen o historia de trasplante renal). La ERC se clasificó en leve (grado I y II: FGE 60-90 ml/min/1,73m²), moderada (grado III: FGE 30-60 ml/min/1,73m²) y severa (grado IV y V: FGE < 30 ml/min/1,73m²) según las guías KDIGO 2012 (290).

6. Características bioquímicas en orina al diagnóstico y al final del estudio:

- a) Se calcularon las excreciones fraccionales (EF) de sodio, potasio y cloro en orina mediante la fórmula: $EF (\%) = (X_{orina} \times Cr_{plasma} / X_{plasma} \times Cr_{orina}) \times 100$. Se consideró como valor normal una EF de sodio en orina menor del 1% en el recién nacido a término, en el niño y en el adulto; y menor del 5% en el recién nacido pretérmino. Por otro lado, se consideró una EF normal de potasio en orina cuando se encontraba entre 10 y 15%, y una EF de cloro normal en orina cuando se encontraba por debajo del 1% (291, 292).
- b) Se calculó el índice de proteínas/creatinina en orina (mg/mg). Se consideró como valor normal un índice menor de 0,5 mg/mg en niños menores de 2 años, y menor de 0,2 mg/mg en niños mayores de 2 años y en adultos (293-296). Dentro de la proteinuria se calculó la microalbuminuria considerando un índice de albumina/creatinina (MAU/Cr) normal cuando era menor de 30 mg/g de creatinina (290).

c) Se calculó el índice de calcio/creatinina (mg/mg). Para la valoración de datos, se aplicaron las siguientes definiciones:

- Normocalciuria: se consideró normocalciuria cuando el índice de calcio/creatinina estuvo entre 0,04 y 0,8 mg/mg en los niños entre 0 y 6 meses de edad; cuando el índice estuvo entre 0,04 y 0,6 mg/mg en los niños entre 6 y 12 meses de edad; cuando el índice estuvo entre 0,04 y 0,5 mg/mg en los niños entre 12 y 24 meses; y cuando el índice estuvo entre 0,04 y 0,2 mg/mg en niños mayores de 2 años y en pacientes adultos (297).
- Hipercalciuria: se consideró hipercalciuria cuando el índice de calcio/creatinina estuvo por encima de los valores de normalidad, o cuando calciuria estuvo por encima de 4 mg/kg/día tanto en niños como en adultos en los casos en los que se obtuvieron valores en orina de 24 horas (297).
- Hipocalciuria: se consideró hipocalciuria cuando el índice de calcio/creatinina estuvo por debajo de 0,04 mg/mg tanto en niños como en adultos (298).

7. Se clasificaron los pacientes según el **fenotipo clínico de presentación** en base a las siguientes variables: presencia de polihidramnios durante el embarazo, edad al diagnóstico y presencia de hipocalciuria e hipomagnesemia al diagnóstico. Se dividieron los pacientes en tres grupos:

- a) **Fenotipo Antenatal o Neonatal (SBAN):** pacientes que presentaron polihidramnios en la ecografía prenatal o cuando el diagnóstico clínico de Síndrome de Bartter se realizó durante las primeras cuatro semanas de vida.
- b) **Fenotipo Gitelman (GL):** Pacientes diagnosticados durante la infancia, a partir del primer mes de vida, o en la edad adulta con hipokalemia, alcalosis metabólica además de una hipomagnesemia y/o hipocalciuria que persiste a lo largo de la evolución

- c) **Fenotipo clásico (SBC):** pacientes diagnosticados durante la infancia, a parto del primer mes de vida, o en la edad adulta con hipokalemia y alcalosis metabólica sin hipomagnesemia ni hipocalciuria.
8. Se recogieron las características halladas en la **ecografía renal** realizada al diagnóstico y al final del estudio. Estos datos fueron valorados por el radiólogo que realizó la ecografía en cada centro de procedencia de cada caso:
- a) **Tamaño renal**, en base a la medida longitudinal del riñón en milímetros. Se emplearon como referencia los valores de las tablas según edad gestacional en recién nacidos y según la talla en el resto de pacientes dependiendo de los datos disponibles (Anexo 5).
 - b) **Ecogenicidad renal**. Se clasificó la ecogenicidad renal como normal o aumentada (hiperecogenicidad renal). Para ello se comparó la ecogenicidad del parénquima renal respecto al parénquima hepático. De esta manera, se denominó ecogenicidad normal a aquella que era menor que la del parénquima hepático, e hiperecogenicidad renal a aquella que era mayor que la del parénquima hepático (299).
 - c) **Desdiferenciación corticomedular**. Se recogió la presencia o ausencia de diferencia de ecogenicidad entre la médula y la corteza renal, indicando así la presencia de una afectación renal cuando la diferencia ecogénica entre ambas era escasa o estaba ausente (300).
 - d) **Nefrocalcinosis o litiasis**. Se recogió la presencia o ausencia de nefrocalcinosis o litiasis en la ecografía al diagnóstico y al final del estudio. Se definió nefrocalcinosis como la presencia de calcio en el parénquima y/o en el túbulo renal visualizado en la ecografía renal (301).
 - e) **Otros hallazgos:** presencia de quistes renales u otras anomalías congénitas del riñón y del tracto urinario.
9. Descripción de **biopsia renal** (si realizada)

10. El **tratamiento** que recibían los pacientes al diagnóstico y el que llevaban al final del estudio. Dentro del tratamiento, se recogió si recibían suplementación con sodio, potasio, magnesio, antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), protector gástrico, un antagonista de la aldosterona, un inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA) y hormona de crecimiento (GH). En cuanto a los AINEs y a la suplementación con potasio, se recogió la dosis que llevaba cada paciente en mg/kg/día y mEq/kg/día, respectivamente. Así mismo, se recogió el tipo de AINE que recibían, si eran inhibidores selectivos o no-selectivos de la enzima ciclooxigenasa, y los efectos secundarios que presentaron.
11. En el caso de mujeres, se recogió el número de **embarazos** que tuvieron a lo largo de la evolución y cuántos de ellos terminaron en abortos. Así mismo, se recogieron las complicaciones que presentaron durante el embarazo y durante el parto/posparto tanto la madre como el recién nacido. En cuanto al aborto, se recogió el trimestre en el que tuvo lugar y, en caso de que estuvieran disponibles, los datos anatomopatológicos de la placenta y/o del feto.

2.2. Características moleculares de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III

Se recogió información sobre las variantes genéticas que presentó cada paciente. Se obtuvo información sobre el estado de homo/heterocigosis de las variantes halladas, el tipo de variante, el cambio que genera en la secuencia de los nucleótidos, y consecuentemente, la alteración que produce en la proteína.

Se realizó una revisión de estudios funcionales publicados hasta la actualidad que analizaban la conductancia residual de cloro en el canal CIC-Kb secundaria a las distintas variantes en el gen *CLCNKB*. Cada alelo mutado se clasificó por separado y se formaron dos grupos (72, 164, 178, 260, 261, 302-304):

1. Alelos con variantes patogénicas que generaban una **pérdida total** de la función del canal CIC-Kb con una conductancia final igual o menor del 20% (PT)

2. Alelos con variantes patogénicas que generaban una **pérdida parcial** de la función del canal ClC-Kb con una conductancia final mayor del 20% (PP)

Así mismo, se clasificaron los pacientes en dos grupos según la combinación de variantes que presentaron:

- Pacientes que presentaron dos variantes patogénicas cuya combinación generaban una pérdida de función total de la proteína (PT) con una conductancia final mayor del 20%. El canal ClC-Kb, al funcionar como un homodímero, el genotipo PT+PP se consideró que presentaba las mismas consecuencias que los genotipos PT+PT. Por lo tanto, estos dos genotipos se analizaron juntos (PP+PT y PT+PT).

- Pacientes con genotipo PP+PP que correspondían a una pérdida parcial de la función de la proteína (PP) con una conductancia residual del canal del cloro mayor del 20%.

2.3. Análisis molecular del gen *CLCNKB*

Se realizó el análisis del gen *CLCNKB*, gen situado en el cromosoma 1, que codifica para el canal del cloro ClC-Kb siguiendo los siguientes pasos:

a) Extracción de ADN

Inicialmente, se extrajo el ADN de cada paciente, así como de los familiares de primer grado de una muestra de sangre total periférica anticoagulada con EDTA (Ácido Etileno Diamino Tetraacético) y congelada a -20 o -40°C. La extracción del ADN se realizó mediante un sistema de extracción *QIAmp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Germany)*. Este método permite la obtención de ADN con un rendimiento de 10-50 ng/μl a partir de 200 μl de sangre. Tras la extracción se realizó la cuantificación del ADN extraído y se comprobó la pureza de la misma mediante el espectrofotómetro *NanoDrop® ND-1000 (Thermo Fisher Scientific; Delaware, EEUU)*.

b) Amplificación del promotor y los 20 exones del gen *CLCNKB* mediante la técnica de reacción en cadena de polimerasa

El gen *CLCNKB* está constituido por 20 exones, de los cuales 19 son codificantes para el canal del cloro ClC-Kb. Además, este gen presenta una alta homología (94%) con el gen *CLCNKA* situado a tan solo 9,7 kb del *CLCNKB*. Por lo tanto, resulta difícil amplificar exones específicos del gen sin amplificar a su vez exones del gen *CLCNKA*. Para ello se empleó la técnica de amplificación de reacción en cadena de polimerasa PCR (del inglés, *Polymerase Chain Reaction*), amplificando grandes fragmentos del gen *CLCNKB* para asegurarse que se trataba de este gen y no de exones del gen *CLCNKA*. Por ejemplo, para analizar el exón 7 donde se encuentra la mutación c.610G>A, la más frecuente en la población española, se amplificaron también los exones 6-9 específicos del gen *CLCNKB*.

La reacción en cadena de la polimerasa o PCR, mediante la cual se sintetizan múltiples copias de un fragmento de ADN específico, se basa en la actividad de la enzima ADN polimerasa que es capaz de sintetizar una cadena de ADN en sentido 5'-3' complementaria a otra ya existente. La técnica PCR consta de tres pasos desarrollados a diferentes temperaturas: 1) Inicialmente se realizó la Desnaturalización a 90-94 ° C para separar las dos hebras del ADN obteniendo así un ADN monocatenario que sirvió de molde para la amplificación al cual la enzima pueda seguir añadiendo desoxinucleótidos trifosfato (dNTPs), 2) Posteriormente se realizó la hibridación de los cebadores, lo que requirió una temperatura de 56,3-66-8°C. Un cebador actuó como guía para saber dónde se debe iniciar la amplificación y constaba de un par de oligonucleótidos complementarios que se unían a cada extremo 3' de la secuencia que queríamos amplificar, 3) A continuación se realizó la extensión, sintetizando la cadena de ADN complementaria por acción del ADN polimerasa que trabaja añadiendo nucleótidos desde el cebador, el cual sirvió como guía inicial. Este paso se realizó a una temperatura de 72°C, temperatura a la cual el ADN polimerasa presenta su máxima actividad. En el Anexo 6 se pueden observar los *primers* empleados.

En total se realizaron 35-40 ciclos de reacción de PCR por lo que se obtuvieron 2³⁵-2⁴⁰ copias de la región amplificada al final de la reacción. Tras finalizar la amplificación, se comprobó si se ha realizado de manera correcta mediante una electroforesis en gel de agarosa 1,5% en

tampón TAE1X. Tras la aplicación de una corriente eléctrica a través del gel, los ácidos nucleicos que poseen carga negativa migraron hacia el fondo del ánodo en condiciones de pH neutro obtenido gracias al tampón TAE1X. Mediante tinción de GelRed del gel agarosa pudo visualizarse esta migración ya que emitía una luz fluorescente.

A continuación se purificaron los fragmentos amplificados mediante el kit EXOSAP-IT®, método que permite la eliminación de cualquier hebra monocatenaria y dNTPs residuales de la PCR que pudieran interferir en las posteriores reacciones, mediante dos enzimas hidrolíticas (exonucleasa I y fosfatasa alcalina). La exonucleasa I degradó los cebadores de cadena sencilla residuales y cualquier ADN de hebra sencilla generada en la PCR. La fosfatasa alcalina hidrolizó los dNTPs remanentes del producto de PCR y los generados tras la actividad exonucleasa I para eliminar posibles interferencias en la reacción de la secuenciación. En el Anexo 1 se puede ver la secuencia del gen *CLCNKB*.

c) **Secuenciación automática**

Tras la purificación de los productos amplificados por PCR, se realizó la secuenciación automática determinando exactamente la secuencia de los nucleótidos de los fragmentos de ADN amplificados. La secuenciación automática, basada en el método Sanger, consiste en la síntesis de una nueva cadena ADN cuya elongación se detiene al añadir una base modificada o terminadora. Para ello, el producto PCR se mezcló con un único cebador y se realizaron 2 reacciones de secuenciación por cada amplicón, una en sentido directo (con el primer *forward* con cola M13: TGTAACGACGGCCAGT) y otra en sentido contrario (con el primer *reverse* con cola M13: CAGGAAACAGCTATGACC) añadiendo la mezcla del KIT *BigDyeR Terminator v3.1 Cycle Sequencing* (Applied Biosystems, Lot. N° 4336919; California, EEUU) que contenía la enzima Taq DNA polimerasa y los terminadores dideoxinucleótidos (ddNTPs). Los ddNTPs están marcados con fluorocromos, uno diferente para cada uno de ellos (ddATP, ddTTP, ddCTP y ddGTP). Carecen del grupo hidróxilo de carbono 3', evitando la formación de un enlace fosfodiéster y la agregación del siguiente dNTP lo que conlleva el fin de la síntesis de la hebra.

Tras la reacción de secuenciación se generó una serie de cadenas sencillas de ADN cuyos tamaños diferían en una única base. Estos fragmentos se purificaron mediante precipitación

con etanol/EDTA/acetato sódico según protocolo del *Applied Biosystems*, California, EEUU. Esta purificación permite la eliminación de exceso de ddNTPs marcados, para que luego, al incidir con el láser, no interfieran en la emisión de la señal.

La secuenciación se realizó de manera cíclica en el termociclador, cada reacción ocurre 25 veces. Así, se generaron múltiples fragmentos de tamaños diferentes que difieren en una única base. Mediante electroforesis capilar, las diferentes hebras se separaron basándose en el tamaño y la carga, según la longitud de las ondas que emiten los fluorocromos excitados por el láser. De esta manera se obtuvo un cromatograma. La electroforesis se realizó en un secuenciador automático ABI PRISM 3130 *XL* y los cromatogramas obtenidos fueron analizados mediante el programa *Sequencing analysis v.5.2* y *SeqScape v3.1* (*Applied Biosystems*, California, EEUU).

d) Amplificación múltiple de sondas dependientes de ligación

Para la detección de deleciones parciales o completas en heterocigosis u homocigosis del gen *CLCNKB* se empleó la técnica MLPA (del inglés, *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*). Es una técnica de amplificación múltiple de sondas dependientes de ligación que es capaz de detectar la variación en el número de copias mediante PCR multiplex de hasta 50 secuencias diferentes de ADN o ARN, incluyendo fragmentos que difieren en un solo nucleótido. Para la realización de esta técnica se empleó un termociclador (*GeneAmp® PCR System 9700, Applied Biosystems*) y un equipo de electroforesis capilar (*ABI PRISM 3130 XL, Applied Biosystems*, California, EEUU).

Inicialmente se realizó la desnaturalización del ADN de las muestras, tras lo cual se añadieron unas sondas de hibridación que se unieron directamente con la secuencia específica a estudio. Para ello el ADN se dejó incubando durante 16-18 horas. Adyacente a cada sonda existía un trozo de secuencia de diferente tamaño no específico de la región a hibridar, lo que permitió diferenciar los múltiples fragmentos. Además, contenían también colas M13, de modo que sólo requirió una pareja de cebadores para la posterior amplificación.

Tras la hibridación, se añadió una enzima ligasa (reacción de ligación) que unió las sondas

hibridadas y posteriormente se procedió a la amplificación de éstas mediante PCR. La intensidad del producto fue proporcional al número de sondas hibridadas y ligadas correctamente. Éstos productos amplificados variaban en tamaño entre 130 pb y 480 pb, y se analizaron por electroforesis capilar pudiendo comparar el patrón (área y tamaño) de los picos obtenidos para las muestras analizadas frente al patrón de los picos de los controles de referencia. Finalmente los datos se analizaron mediante el Software *GeneMapper*® versión 4.0 (*Applied Biosystems*, California, EEUU).

e) **Valoración de variaciones en el número de copias mediante QMPSF (del inglés, *Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments*)**

En algunos casos se realizó el análisis del número de copias de ADN para la valoración de ganancias y pérdidas parciales o completas de alelos del gen *CLCNKB* mediante la técnica de PCR múltiples cuantitativa de fragmentos cortos fluorescentes (QMPSF). La ventaja de la técnica de MLPA frente a la de QMPSF es que nos permite el análisis de más de 40 *loci* en una sola reacción múltiple y que, gracias al paso de ligación, es muy específica, permitiendo el análisis del número de copias de regiones con una alta homología. Por otra parte, en la técnica de QMPSF el diseño de los cebadores es menos complicado resultando en una técnica más económica y sencilla cuando queremos realzar una rápida validación de pocas secuencias.

La técnica de QMPSF consiste en una PCR múltiple, en la que uno de los cebadores está marcado con fluorescencia (56-FAM). La reacción se para en la fase exponencial (ciclo 24) lo que permite cuantificar la dosis génica. En el experimento incluimos las muestras de los pacientes, al menos tres controles normales, un control positivo con una delección conocida y un no ADN, es decir, una muestra en la que añadimos agua desionizada o TE (Tris-EDTA) una vez en el ADN lo que hace que no aparezca ninguna señal.

Una vez obtenido el producto de PCR con los fragmentos marcados fluorescentemente, se produjo la migración de los productos amplificados mediante electroforesis capilar en un secuenciador automático ABI PRISM 3130 XL. Esta preparación se realizó de la misma forma que la utilizada para analizar los fragmentos de MLPA. Para el análisis de los datos obtenidos se utilizó el programa informático *GeneMapper*® Software versión 4.0 (*Applied Biosystems*,

California, EE.UU.)

Primero se valoró la calidad del experimento QMPSF, para ello se inspeccionaron los patrones de picos en el electroferogramas. Se compararon las muestras problemas con los controles normales y positivos dividiendo el área o altura de los picos del producto amplificado (exones del gen *CLCNKB*) entre los del producto amplificado control (un fragmento en otro gen que suponemos que no está delecionado). Finalmente se compararon los resultados obtenidos de las muestras problema con los resultados de las muestras control normal y control positivo.

f) Interpretación de las variantes halladas en el gen *CLCNKB*

Para la categorización de las variantes se siguieron las recomendaciones del Colegio Americano de Genética Médica (ACMG, del inglés, *American College of Medical Genetics and Genomics*) (305). La guía ACMG evalúa 28 tipos diferentes de evidencia asociados a características inherentes a cada variante, como puede ser la frecuencia alélica, los estudios funcionales, predicciones *in-silico*, análisis de segregación y relación genotipo-fenotipo clasificando las variantes en cinco grupos: **1) P**: variante patogénica (del inglés, *pathogenic*), **2) LP**: probablemente patogénica (del inglés, *likely pathogenic*), **3) VOUS**: variante de significado incierto (del inglés, *variant of uncertain significance*), **4) LB**: probablemente benigna (del inglés, *likely benign*), y **5) B**: benigna (del inglés, *benign*).

Una de las evidencias que se tuvo en cuenta para clasificar la patogenicidad de las variantes fue la frecuencia poblacional de cada una de ellas. Los datos poblacionales se determinaron a partir de bases de datos genómicas públicas (*1000 Genomes Project*, *GnomAD*, *dbSNP*). Las variantes con una MAF (del inglés, *Minor Allele Frequency*) $> 0,01$ no se consideraron patogénicas ya que tenían una frecuencia superior a lo esperado para la prevalencia de Síndrome de Bartter Tipo III en población general. La ausencia (o muy baja frecuencia) de MAF de la variante en bases de datos poblacionales, se consideró una evidencia a favor de su patogenicidad. En las variantes raras detectadas con $MAF \leq 0,01$ se evaluaron otros criterios como el tipo de variante, los datos clínicos, los estudios funcionales y de relación genotipo-fenotipo en la literatura (Pubmed), e información de la variante en las bases de datos de enfermedades como el HGMD (del inglés, *Human Gene Mutation Database Professional*).

Para predecir el posible efecto patogénico de las variantes halladas en el gen *CLCNKB* se utilizaron los siguientes métodos de predicción:

1. **Polyphen-2** (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>). Este programa predice el impacto que ocasiona una sustitución de un aminoácido en la estructura y función de la proteína. Para ello, analiza las características sobre la secuencia, la filogenética y la estructura que caracteriza la sustitución utilizando la base de datos de proteínas humanas UniProtKB/UniRef100 y la base de datos de estructuras protéicas PDB/DSSP (del inglés, *Dictionary of Secondary Structure in Proteins*).
2. **Sift**, del inglés, *Sorting Intolerant From Tolerant* (<http://sift.jcvi.org/>) y **Panther**, del inglés, *Protein Analysis Through Evolutionary Relationships* (<http://www.pantherdb.org/>) son dos programas que analizan el grado de conservación de la región a la que afecta, y en base al grado de conservación, establecen si la alteración es tolerable o deletérea.
3. **SNPs&GO** (<http://snps-and-go.biocomp.unibo.it/snps-and-go/>) es un *software* que tiene un predictor integrado GO (del inglés, *Gene Ontology*) predice de mutaciones puntuales en proteínas que puedan ser causa de enfermedad en los seres humanos basándose en el método SVM (del inglés, *Support Vector Machine*). Para ello utiliza diferente información sobre el proceso biológico, la función molecular y el componente celular para predecir si una variación puede ser clasificada como causante de enfermedad o neutra.
4. **MutationTaster** (<http://www.mutationtaster.org/>). Es una aplicación web para una evaluación de las alteraciones de la secuencia de ADN. *MutationTaster* integra información de diferentes bases de datos biomédicas y utiliza herramientas de análisis establecidos. Los análisis de las variantes halladas se basan en la conservación evolutiva de éstas a lo largo de generaciones, los cambios de sitio de corte y de empalme que presenten, en la pérdida de las características de la proteína y los cambios que puedan afectar a la cantidad de RNA mensajero. Un clasificador denominado *Bayes* predice el potencial de la enfermedad, para ello analiza más de 390.000 variantes conocidas causantes de enfermedad incluidas en la base de datos

HGMD y más de 6.800.000 SNPs y polimorfismos conseguidos del proyecto genoma 1000. Dependiendo de la naturaleza de la alteración, *MutationTaster* escoge entre tres diferentes modelos de predicción; alteraciones sinónimas o intrónicas, alteraciones que afectan a un solo aminoácido y las alteraciones que causan cambios complejos en la secuencia de aminoácidos. El valor de probabilidad que da el programa es el valor de probabilidad de la predicción. Este valor, cuanto más se acerque al valor 1, más segura será la predicción.

5. **Provean** (<http://provean.jcvi.org/index.php>), del inglés, *Protein Variation Effect Analyzer* es un software que predice a través de múltiples alineamientos con proteínas homólogas, si la variación de la secuencia de la proteína (una sustitución de un aminoácido) puede afectar a su función biológica.
6. **VarSome**, (<https://varsome.com/>) es un *software* que muestra una información detallada de la variante consultada, incluyendo el estado de patogenicidad pronosticado a partir de una variedad de herramientas, el contexto genómico, así como información de más de 35 bases de datos públicas. Permite a los usuarios marcar la patogenicidad de las variantes y vincularlas a fenotipos, enfermedades y publicaciones específicas. Por último, proporciona una evaluación automatizada de la patogenicidad en consonancia con las directrices ampliamente aceptadas del Colegio Americano de Genética Médica ACMG.

2.4. Análisis estadístico

Mediante un sistema estandarizado de tratamiento de bases de datos se creó una base de datos informatizada y codificada. Inicialmente se procedió a una validación de la información mediante el estudio de valores perdidos y fuera de rango, verificando y corrigiéndose los datos hasta alcanzar la total validación de los mismos. Posteriormente, se realizaron codificaciones para generar nuevas variables derivadas (reagrupación, recodificación, etc.) para realizar las comparaciones oportunas.

a) Estadística descriptiva

Inicialmente se realizó una descripción de la población incluida teniendo en cuenta las distintas características de las variables:

- **Variables cualitativas (categóricas):** se caracterizaron las variables utilizando distribuciones de frecuencia y porcentajes.

- **Variables cuantitativas:** en las variables que seguían una distribución normal se estableció la media como medida de posición central y la desviación estándar (DE) como medida de dispersión; mientras que en las variables en las que la distribución resultó asimétrica, las variables fueron expresadas mediante mediana y entre paréntesis el percentil 25 y 75.

b) Inferencia estadística

Se realizaron distintas comparaciones según la presencia de enfermedad renal crónica, crecimiento y severidad de genotipo de los pacientes. La comparación entre las variables categóricas se realizó mediante el test estadístico *chi* cuadrado y el estadístico Fisher cuando las frecuencias esperadas eran menores a 5. Para comparar las variables dicotómicas con las variables continuas se utilizó el test no paramétrico *U de Mann-Whitney*.

Para comparar las características clínicas de los pacientes al diagnóstico y el final del estudio se empleó el test no paramétrico *McNemar* para las variables dicotómicas y el test no paramétrico de *Wilcoxon* para las variables continuas ya que no seguían una distribución normal.

Por ultimo para realizar la comparación entre los tres fenotipos clínicos de presentación (antenatal o neonatal, clásico, Gitelman) se utilizó el test no paramétrico *Kruskal-Wallis* en el caso de variables continuas, y para ver entre qué fenotipos existían diferencias se utilizó el test *pos-hoc de Bonferroni*.

Se ha utilizado el programa estadístico SPSS vs 23.0 estableciéndose el nivel de significación en $p < 0,05$.

2.5. Aspectos éticos

Se informó en todo momento a los pacientes y a sus familiares de forma oral y escrita de la naturaleza, importancia, implicaciones y riesgos de la investigación. Así mismo, como se ha comentado previamente, se obtuvo su consentimiento informado expreso para la realización del estudio genético tal y como exige la Ley 14/2007, de 3 julio, de Investigación biomédica que regula los estudios genéticos. En el caso de pacientes menores de edad, el consentimiento informado se firmó por parte de sus progenitores o tutores (Anexo 7). En todos los casos se informó del derecho a revocar libremente el consentimiento otorgado en cualquier momento, sin perjuicio para el seguimiento de su enfermedad. Así mismo, también se obtuvo el consentimiento informado para el uso de datos médicos de los pacientes con fines docentes o de investigación científica (Anexo 8), siempre garantizando la preservación de la identidad personal de cada paciente y la confidencialidad de los datos en todo momento, de acuerdo a la normativa legal vigente en España (Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de Desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y la Ley Básica 41/2002, de 14 de noviembre, Reguladora de la Autonomía del Paciente y de Derechos y Obligaciones en materia de información y documentación clínica). El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética de la investigación con medicamentos de Euskadi (código PI2019214) (Anexo 9). En todo momento se empleó una base de datos informatizada, y se aseguró la confidencialidad mediante la encriptación de la información relevante y el uso de códigos (SOR) para cada paciente, incluidos los casos en los que se solicitaron los datos mediante correo electrónico a los médicos responsables del paciente. El informe de los resultados del estudio molecular se entregó a los médicos responsables y éstos informaron a los pacientes. En todos los casos se explicó la implicación clínica de dichos resultados y se realizó un consejo genético.

2.6. Limitaciones del estudio

Al tratarse de un estudio de cohortes retrospectivo, las limitaciones en su realización fueron las siguientes:

- Al tratarse de un estudio con pacientes de distintos centros, los datos clínicos tanto del diagnóstico como de la evolución a largo plazo fueron aportados por distintos médicos responsables en cada caso. Además, en muchas ocasiones los datos clínicos procedían de la anamnesis realizada al paciente, de una manera subjetiva. La heterogeneidad de los datos hizo difícil en ocasiones el análisis final de los resultados de la cohorte.
- En los casos en los que hubo uno o varios cambios de médico responsable a lo largo de la evolución del paciente dificultó la obtención de datos clínicos al final del estudio.
- En algunos casos, debido a la antigüedad de las historias clínicas, no obtuvimos datos perinatales, características renales ni del líquido amniótico de la ecografía prenatal.
- La ecografía prenatal fue realizada por obstetras diferentes de cada centro de procedencia por lo que la variabilidad inter-observador hizo que los datos sobre el líquido amniótico fueran variables, y que la valoración de la morfología renal no fuese homogénea en todos los pacientes. Por otro lado, no se pudo realizar una revisión de las imágenes para tener mayor objetividad y homogeneidad de datos.
- La ecografía renal se realizó por radiólogos diferentes en el centro de procedencia de cada caso, por lo que la evaluación ecográfica no fue homogénea estando sujeta a la variabilidad inter-observador. No se pudo realizar una revisión de las imágenes para tener mayor objetividad y homogeneidad de estos datos.
- El hecho de que el Síndrome de Bartter sea una enfermedad rara, hace que el tamaño de la muestra no pueda ser mayor, dificultando en ocasiones la interpretación de los resultados de los análisis estadísticos.

- Al obtener datos en dos momentos diferentes de la enfermedad (al diagnóstico y al final del estudio) ha hecho que la precisión de la información sea menor dificultando la valoración clínica y analítica en distintos momentos de la evolución de la enfermedad. En el caso de la valoración del desarrollo ponderoestatural de nuestra cohorte, la ausencia de datos sobre la velocidad de crecimiento o de curvas de crecimiento de cada paciente para conocer la evolución en el tiempo del peso y de la talla dificultó el análisis del retraso ponderoestatural en los pacientes pediátricos.
- Los datos sobre el crecimiento y el desarrollo neurológico no siempre estuvieron disponibles en los pacientes adultos entorpeciendo la valoración de estos aspectos en la evolución de la enfermedad. Así mismo, en los pacientes de una etnia distinta a la caucásica, al no disponer de tablas de referencias de peso y talla, no se pudo analizar el desarrollo ponderoestatural con respecto a la población general de su misma etnia. Por otro lado, en los casos en los que se obtuvieron datos sobre el desarrollo neurológico, éstos no fueron recogidos de manera homogénea sesgando la valoración de este aspecto.
- La ausencia de estudios funcionales en algunas de las variantes dificultó el análisis de correlación genotipo-fenotipo.

V. RESULTADOS

En este apartado se analizan las características demográficas y perinatales, los datos clínicos, y el tratamiento al diagnóstico de la enfermedad y a largo plazo, así como las características moleculares de una cohorte afecta de Síndrome de Bartter Tipo III. Así mismo, se analizan los distintos factores que podrían estar relacionados con el pronóstico de los pacientes en cuanto al desarrollo de la enfermedad renal crónica y el retraso del crecimiento, y se estudia la correlación genotipo-fenotipo de la cohorte. Por último, se describen los embarazos y sus complicaciones que ocurren en las mujeres de nuestra cohorte.

1. DATOS DEMOGRÁFICOS

En nuestro estudio se analizó una cohorte de 49 pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, entre los cuales, 20/49 (41%) eran hombres y 29/49 (59%) eran mujeres, lo que hace una relación hombre:mujer de 1:1,45. Los 49 pacientes procedían de 44 familias. En 4 familias (SOR 24, SOR 54, SOR 104, SOR 124) existía más de un miembro afecto de la enfermedad; las características clínicas de estas familias se describen en el apartado 3.10. Además, en 7 de las 44 familias de nuestra cohorte existía una consanguinidad entre ambos progenitores.

En cuanto al origen de los pacientes, 41 pacientes de 36 familias (84% total de la cohorte) eran españoles y todos eran de etnia caucásica. Por otro lado, 8 pacientes de 8 familias (16% de la cohorte) provenían de distintos lugares: 4 familias eran de América Latina de etnia hispana (una familia de Argentina, otras de Brasil y dos familias de Perú); una familia provenía del Sureste de Europa (Grecia) y era de etnia caucásica; una familia era del Norte de África (Marruecos) de etnia árabe, y dos familias eran de África Subsahariana de etnia negra. En el Anexo 10 se detallan las características demográficas de cada uno de los pacientes de la cohorte.

En resumen, la mayoría de los casos de la cohorte son unifamiliares, de etnia caucásica y españoles.

2. CARACTERÍSTICAS PERINATALES

En relación a las características perinatales de nuestra cohorte, por un lado, se analizó si los pacientes presentaban anomalías renales u otras anomalías morfológicas fetales, así como alteraciones del líquido amniótico en las ecografías prenatales realizadas durante el embarazo. Por otro lado, también se recogió la edad gestacional al nacimiento y el peso de recién nacido de los pacientes. Las características perinatales de cada paciente se detallan en el Anexo 10.

En total, se obtuvieron datos perinatales en 47 de los 49 pacientes de nuestra cohorte (Tabla 9). En todos los pacientes, las ecografías prenatales realizadas durante el embarazo fueron normales, sin hallar malformaciones fetales ni alteraciones en el tamaño y en la estructura renal. En 15/47 (32%) pacientes se detectó polihidramnios durante el embarazo y en ningún caso se realizó amniodrenaje ni análisis bioquímico del líquido amniótico.

Tabla 9. Resumen de los datos perinatales de los pacientes de la cohorte (n=47 pacientes)

	Valor	Nº de Pacientes
Polihidramnios	-	15 (32%)
Edad gestacional, semanas *	38 ± 2	
Moderadamente prematuro (32 – < 34 semanas)	-	3 (6,5%)
Prematuro tardío (34 – 37 semanas)	-	4 (8,5%)
A término (≥ 37 semanas)	-	40 (85%)
Peso de recién nacido, gramos *	3063 ± 701	
< Percentil 3	-	4 (9%)
Percentil 3-90	-	37 (78%)
> Percentil 90	-	6 (13%)

* Valor expresado en media ± desviación estándar

La media de la edad gestacional al nacimiento de toda la cohorte fue de 38 ± 2 semanas, y solamente 7/47 (15%) fueron prematuros. De ellos, el 6,5% fueron moderadamente prematuros (32 - < 34 semanas) y 8,5% prematuros tardíos (34 - 37 semanas). El resto de pacientes 40/47 (85%) nacieron a término (≥ 37 semanas). En nuestra cohorte, ningún paciente fue muy prematuro (29 - < 32 semanas) ni extremadamente prematuro (≤ 28 semanas). El peso medio de recién nacido de toda la cohorte fue 3063 ± 701 gramos: 4/47 (9%) pacientes fueron pequeños para la edad gestacional (< P3), 37/47 (78%) pacientes presentaron un peso adecuado para la edad gestacional (P3-90) y 6/47 (13%) fueron grandes para la edad gestacional (> P90).

En resumen, en relación a los datos perinatales, en nuestra cohorte el polihidramnios fue poco frecuente, y no se observaron alteraciones renales en la ecografía prenatal en ningún paciente. Así mismo, la mayoría de los pacientes nacieron a término con un peso adecuado para la edad gestacional.

3. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y TRATAMIENTO DE LA COHORTE AL DIAGNÓSTICO Y AL FINAL DEL ESTUDIO

En este apartado, inicialmente se describen los distintos fenotipos clínicos de presentación observados en nuestra cohorte. Posteriormente, se describen y se comparan las características clínicas y bioquímicas que presentaban los pacientes, así como el tratamiento que recibían al diagnóstico de la enfermedad y al final del estudio. Así mismo, se analizan los posibles factores relacionados con la evolución clínica a largo plazo, concretamente, en relación al crecimiento y al desarrollo de la enfermedad renal crónica a largo plazo. Por último, se comparan las distintas características clínicas y bioquímicas de los pacientes dependiendo del fenotipo clínico que presentaron al diagnóstico, y se realiza una breve descripción de las familias que presentaban más de un miembro afecto de Síndrome de Bartter Tipo III. El fenotipo clínico de presentación, las características clínicas y bioquímicas de cada paciente al diagnóstico de la enfermedad y al final del estudio se detallan en los Anexos 10 y 11, respectivamente. En el Anexo 12 se detalla el tratamiento que recibió cada paciente de la cohorte al diagnóstico de la enfermedad y al final del estudio.

3.1. Fenotipo clínico de presentación de los pacientes de la cohorte al diagnóstico de la enfermedad

En base a distintas características clínicas de los pacientes al diagnóstico de la enfermedad, se dividió nuestra cohorte en tres fenotipos clínicos: **1)** Fenotipo clínico similar al Síndrome de Bartter Antenatal o Neonatal: pacientes que presentaron polihidramnios durante el embarazo y/o se diagnosticaron en el primer mes de vida, **2)** Fenotipo clínico similar al Síndrome de Gitelman: pacientes que se diagnosticaron a partir del mes de vida que presentaron una hipocalciuria y/o una hipomagnesemia, **3)** Fenotipo clínico de Síndrome de Bartter Clásico: pacientes que no presentaron polihidramnios durante el embarazo y se diagnosticaron a partir del mes de vida con normocalciuria o hipercalciuria, y magnesio en plasma normal.

En nuestra cohorte, 26/49 (53%) pacientes presentaron un fenotipo clínico de Síndrome de Bartter Clásico, 17/49 (35%) pacientes presentaron un fenotipo clínico similar al Síndrome de Bartter Antenatal o Neonatal, y 6/49 (12%) pacientes presentaron un fenotipo clínico similar al Síndrome de Gitelman. Más adelante, en el apartado 3.9, se describen y se comparan las características clínicas al diagnóstico y a largo plazo de los pacientes de cada grupo de fenotipo clínico.

En resumen, en relación al fenotipo clínico de presentación, aunque el fenotipo clásico fue el más frecuente, algunos pacientes presentaron otro fenotipo (antenatal o neonatal y Gitelman).

3.2. Edad de los pacientes de la cohorte al diagnóstico y al final del estudio

La mediana de edad de los pacientes de toda de la cohorte al diagnóstico clínico de la enfermedad fue 0,67 (0,5-3) años. En 46/49 (94%) pacientes el diagnóstico clínico se realizó en edad la pediátrica (< 18 años). De ellos, 29/49 (60%) pacientes se diagnosticaron en el primer año de vida (≤ 1 año), 6/49 (12%) pacientes se diagnosticaron entre el primer y el segundo año de vida, y 11/49 (22%) pacientes entre los 2 y los 18 años. Solamente 3/49 (6%) pacientes de la cohorte se diagnosticaron en la edad adulta (≥ 18 años), y tenían entre 22 y 26 años de edad (Figura 19).

Al final del estudio, la mediana de tiempo de evolución de toda la cohorte fue 12,1 años (6,4-26,4). Entre todos los pacientes 29/49 (59%) tenían un tiempo de evolución menor de 15 años y 20/49 (41%) igual o mayor de 15 años. En cuanto a la edad de los pacientes al final del estudio, 20/49 (41%) eran adultos (≥ 18 años) y 29/49 (59%) eran pacientes pediátricos (< 18 años). Entre estos últimos, 1/49 (2%) era un lactante menor de 2 años de edad y 28/49 (57%) eran pacientes entre 2 y 18 años.

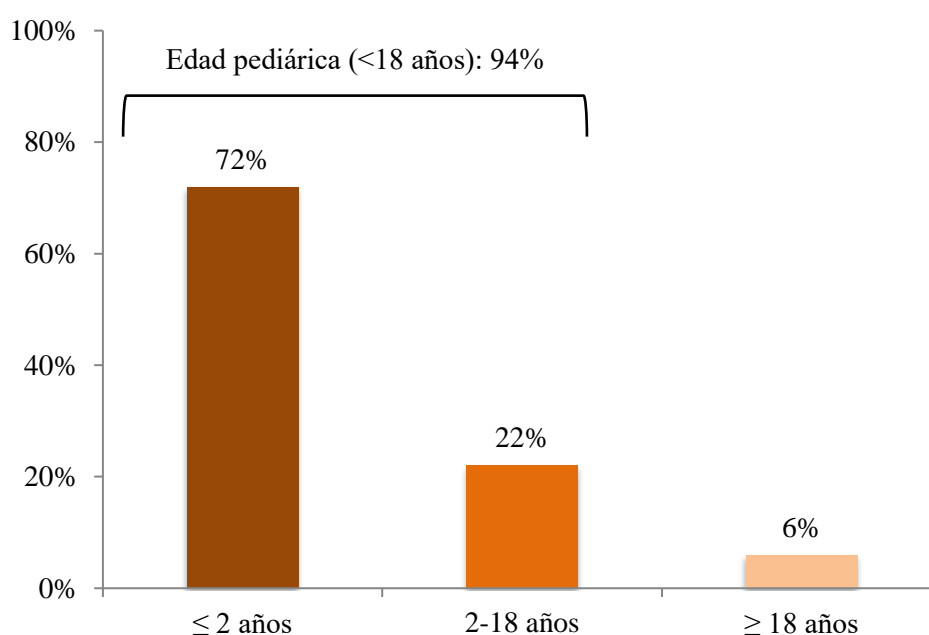


Fig. 19 . Representación gráfica de la edad de los pacientes al diagnóstico clínico de la enfermedad (n=49 pacientes).

El 94% de los pacientes se diagnosticaron en edad pediátrica (< 18 años), entre ellos, la mayoría (72% del total de la cohorte) eran igual o menores de dos años de edad. Solamente el 6% de los pacientes de la cohorte eran adultos (≥ 18 años) al diagnóstico de la enfermedad.

Por otro lado, se analizó si existía una relación entre la edad que tenían los pacientes y el año en el que se realizó el diagnóstico clínico de la enfermedad (Tabla 10). En toda la cohorte, 19/49 (39%) pacientes fueron diagnosticados antes del año 2000, concretamente entre los años 1972 y 1999. El resto de los pacientes, 30/49 (61%), fueron diagnosticados a partir del año 2000, concretamente, entre el año 2000 y 2018. La mediana de edad al diagnóstico de los pacientes diagnosticados antes del año 2000 fue significativamente mayor [2,3 (0,6-16) años]

que la de los pacientes diagnosticados a partir del año 2000 [0,6 (0,2-0,9) años] ($p=0,001$). Además, entre los casos diagnosticados a partir del año 2000 ($n=30$), 25/30 (83%) tenían una edad igual o menor de 2 años al diagnóstico. Por el contrario, entre los casos diagnosticados antes del año 2000 ($n=19$), solamente 7/19 (37%) eran igual o menores de dos años. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p=0,001$).

Tabla 10. Relación entre la edad y el año del diagnóstico clínico ($n=49$ pacientes)

	Diagnosticado año < 2000 n=19		Diagnosticado año \geq 2000 n=30		Valor P
	Valor	Nº Pacientes	Valor	Nº Pacientes	
Edad diagnóstica, mediana (P25-75)	2,3 (0,6-16)	-	0,6 (0,2-0,9)	-	0,001
Pacientes \leq 2 años	-	7 (37%)		25 (83%)	0,001
Pacientes > 2 años	-	12 (63%)		5 (17%)	

En resumen, la mayor parte de los pacientes se diagnosticaron antes de los dos años de vida y raramente en la edad adulta. Los pacientes diagnosticados después del año 2000 se diagnosticaron a una edad más temprana que los diagnosticados antes del año 2000.

3.3. Signos clínicos de la cohorte al diagnóstico y al final del estudio. Desarrollo neurológico y patologías psiquiátricas a largo plazo

En nuestro estudio se analizaron los signos clínicos que presentaron los pacientes al diagnóstico de la enfermedad y al final del estudio. Así mismo, se recogieron los episodios de complicaciones agudas, de origen infeccioso o de otro origen, que presentaron los pacientes a lo largo de la evolución dando lugar a hipopotasemias severas que requirieron hospitalizaciones. Por último, se recogió si en la historia clínica de los pacientes se reflejaba algún signo de retraso cognitivo, así como si los pacientes padecían algún trastorno psiquiátrico.

En cuanto a los signos clínicos al diagnóstico de la enfermedad, entre los 49 pacientes de la cohorte, el signo clínico más frecuente fue el fallo de medro que estuvo presente en 36/49 (73%) pacientes, seguido por la poliuria hallándose en 33/49 (67%), la polidipsia en 31/49 (63%), la hipotonía en 29/49 (60%), y los signos clínicos de deshidratación (mucosas secas, ojos hundidos, irritabilidad) en 28/49 (57%). Los signos clínicos menos frecuentes fueron el estreñimiento, que estuvo presente en 15/49 (30%) pacientes, y la avidez por la sal en 8/49 (16%) pacientes. Por último, los calambres, la astenia, la debilidad muscular o las palpitaciones solamente se describieron en 5/49 (10%) pacientes. Así mismo, en dos pacientes (4%) el diagnóstico se realizó de manera fortuita tras hallar una hipokalemia en una analítica realizada en otro contexto. La tensión arterial fue normal en todos los pacientes (Figura 20).

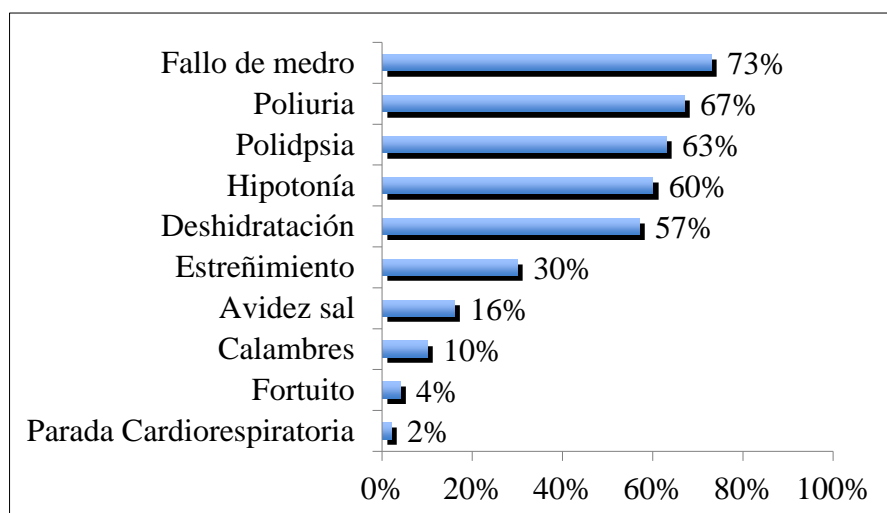


Fig. 20. Signos clínicos al diagnóstico de la enfermedad y su frecuencia expresada en porcentajes (n=49 pacientes).

*Otros: Calambres, astenia, debilidad muscular o palpitaciones.

Entre todos los signos clínicos que presentaron los pacientes de nuestra cohorte, el más grave lo presentó el paciente SOR 51, que se diagnosticó a los 25 años de edad en contexto de una parada cardiorrespiratoria además de una rabdomiolisis y una hipokalemia severa. Este paciente se describe con detalle más adelante en el apartado 3.7. donde se describen los pacientes con enfermedad renal crónica de nuestra cohorte.

En cuanto a los signos clínicos al final del estudio, se obtuvieron datos en 40 de los 49 pacientes de la cohorte: 4/40 (10%) pacientes referían calambres, debilidad muscular y/o palpitaciones.

Entre los pacientes que referían palpitaciones, solamente un paciente (SOR 195) presentó alteraciones en el electrocardiograma. Este paciente fue diagnosticado a los 23 años de edad, diagnosticándose inicialmente de Síndrome de Gitelman, en contexto de calambres y astenia con hipokalemia (2,9 mEq/l), hipomagnesemia (1,3 mg/dl) e hipocalciuria (índice de calcio/creatinina 0,02 mg/mg). Presentó un alargamiento del intervalo QT en el electrocardiograma con extrasístoles ventriculares y auriculares frecuentes. Además, asociaba episodios de síncope de repetición desde el diagnóstico de la enfermedad que persistían tras 25 años de seguimiento, requiriendo hospitalizaciones prácticamente todos los meses con hipokalemia severa.

En cuanto al desarrollo neurológico de los pacientes de la cohorte, un paciente (SOR 84) presentaba un retraso neurológico debido a una microdelección del cromosoma 22, y otro paciente (SOR 80) presentó un leve retraso escolar en contexto de un trastorno de déficit de atención e hiperactividad. En el resto de pacientes, aunque no se obtuvieron datos objetivos sobre el desarrollo neurológico, en la historia de ninguno se reflejaban datos relevantes de un retraso cognitivo. Un paciente (SOR 109) presentaba un fenotipo peculiar con ojos grandes y frente prominente pero con desarrollo neurológico normal. Además, en nuestra cohorte, cinco pacientes (10%) presentaron un cuadro psiquiátrico ansioso-depresivo a lo largo de la evolución (SOR 51, SOR 80, SOR 104A, SOR 195).

Por otro lado, se obtuvieron datos de las complicaciones agudas que presentaron los pacientes a lo largo de la evolución de la enfermedad en 45 de los 49 pacientes de la cohorte. En 11 de 45 pacientes (24%) precisaron varios ingresos por hipopotasemia en contexto de gastroenteritis aguda, mal cumplimiento terapéutico o ayunas prolongadas previo a una cirugía. Además, 2 (4%) pacientes presentaron infecciones de orina de repetición (SOR 5 y SOR 45).

Finalmente, un paciente (SOR 104A) presentó un episodio de colelitiasis en la infancia. Este paciente presentó un fenotipo antenatal con polihidramnios durante el embarazo, y nació a término a las 39 semanas de gestación sin complicaciones en el periodo neonatal. Fue diagnosticado de Síndrome de Bartter a los 2 meses de edad en contexto de fallo de medro con una calciuria normal. La edad a la que presentó la colelitiasis fue desconocida, y al final del estudio tenía 13 años de edad con una función renal normal.

En resumen, los signos clínicos más frecuentes fueron el fallo de medro, seguido de la poliuria, la polidipsia, la deshidratación y la hipotonía. En el seguimiento, la clínica de los pacientes es escasa y algunos pacientes refieren calambres, astenia o palpitations asociado a la hipokalemia con o sin hipomagnesemia. En general, las alteraciones cardiológicas y neurológicas a largo plazo fueron poco frecuentes.

3.4. Alteraciones hidroelectrolíticas de la cohorte

En este apartado, se describen y se comparan las alteraciones hidroelectrolíticas que presentaron los pacientes, así como la suplementación oral de los distintos iones que recibían al diagnóstico clínico de la enfermedad y al final del estudio. Así mismo, se comparan las alteraciones hidroelectrolíticas que presentaron los pacientes dependiendo de la edad que tenían al diagnóstico.

3.4.1. Comparación de las alteraciones hidroelectrolíticas de la cohorte al diagnóstico clínico de la enfermedad y al final del estudio

A continuación, se describen y se comparan los valores de potasio, sodio, cloro, pH, bicarbonato, calcio y magnesio en plasma de los 49 pacientes de la cohorte al diagnóstico de la enfermedad y al final del estudio. En el caso del potasio, se describe la dosis de la suplementación oral que recibían los pacientes. En cuanto a la suplementación con cloruro sódico y con magnesio, se describe si los pacientes recibían o no suplementación oral. Así mismo, se analiza el número de pacientes que presentaron hipercalciuria o hipocalciuria así como los valores de excreción fraccionada de sodio, potasio y cloro en orina al diagnóstico y al final del estudio. En la Tabla 11 se resumen los resultados.

a) Alteraciones del cloro en plasma al diagnóstico clínico de la enfermedad y al final del estudio

La media de la cloremia de toda la cohorte al diagnóstico de la enfermedad fue 87 ± 6 mEq/l (valor normal $> 95-105$ mEq/l). En 44/49 (90%) pacientes se halló una hipocloremia ≤ 95 mEq/l. En el resto de pacientes, aunque el valor del cloro en plasma fue normal, se encontraba cerca del límite bajo de la normalidad entre 95 y 97 mEq/l. A lo largo de la evolución, la

cloremia media de la cohorte aumentó significativamente con respecto al diagnóstico [87 ± 6 mEq/l vs. 96 ± 2 mEq/l ($p < 0,001$)]. Así mismo, el número de pacientes con hipocloremia disminuyó significativamente a lo largo de la evolución (90% vs. 49%; $p=0,002$).

b) Alteraciones del potasio en plasma al diagnóstico clínico de la enfermedad y al final del estudio

Todos los pacientes presentaron una hipokalemia $\leq 3,5$ mEq/l al diagnóstico clínico de la enfermedad con una media de kalemia de $2,4 \pm 0,6$ mEq/l (valor normal $>3,5-4,5$ mEq/l): **a)** En 14/49 (29%) pacientes el potasio en plasma fue igual o menor de 2 mEq/l, **b)** En 31/49 (63%) se observó una kalemia entre 2 y ≤ 3 mEq/l y, **c)** En 4/49 (8%) pacientes se halló una kalemia entre 3 y $\leq 3,5$ mEq/l. Se iniciaron suplementos orales de potasio en todos los pacientes al diagnóstico de la enfermedad, y la mediana de dosis que recibieron fue de 2,5 (2-4,4) mEq/kg/día: el 91% recibían potasio en forma de cloruro potásico y el 9% en forma de hidrogenocarbonato de potasio con ácido ascórbico. En 40/49 (82%) pacientes se prescribió una dosis de potasio de entre 0,5 y 5 mEq/kg/día y en 7/49 (14%) pacientes entre 5 y 10 mEq/kg/día. En dos pacientes de la cohorte (4%) se prescribió una dosis mayor de 10 mEq/kg/día: el paciente SOR 137 fue diagnosticado al mes de vida con un potasio en plasma de 2 mEq/l prescribiéndose una dosis de 14 mEq/kg/día, y el paciente SOR 90 fue diagnosticado a los 6 meses de vida con una kalemia de 1,6 mEq/l prescribiéndose una dosis de 20 mEq/kg/día de potasio al diagnóstico.

Al final del estudio, la kalemia media de la cohorte fue significativamente mayor ($3 \pm 0,6$ mEq/l) con respecto al diagnóstico ($p < 0,001$). Todos los pacientes, salvo uno que se encontraba en fallo renal en hemodiálisis (SOR 51), recibían suplementos orales de potasio al final del estudio. En 42/49 (86%) pacientes se halló una hipokalemia $\leq 3,5$ mEq/l: **a)** En 1/49 (3%) pacientes se observó una kalemia igual o menor de 2 mEq/l, **b)** En 26/49 (53%) pacientes la kalemia estuvo entre 2 y ≤ 3 mEq/l y, **c)** En 15/49 (30%) pacientes se halló una hipokalemia entre 3 y $\leq 3,5$ mEq/l.

Tabla 11. Alteraciones hidroelectrolíticas de los pacientes de la cohorte al diagnóstico y al final del estudio (n=49 pacientes)

	Diagnóstico		Final		Valor p
	Valor	Nº Pacientes	Valor	Nº Pacientes	
Cloremia (mEq/l) *, VN > 95-105	87 ± 6	-	96 ± 2	-	< 0,001
- Hipocloremia (≤ 95 mEq/l)	-	44 (90%)	-	24 (49%)	0,002
Kalemia (mEq/l) * VN: >3,5-4,5	2,4 ± 0,6		3 ± 0,6		< 0,001
- Hipokalemia (≤ 3,5 mEq/l)	-	49 (100%)	-	42 (86%)	ns
≤ 2 mEq/l	-	14 (29%)	-	1 (3%)	-
2 - ≤ 3 mEq/l	-	31 (63%)	-	26 (53%)	-
3 - ≤ 3,5 mEq/l		4 (8%)	-	15 (30%)	-
- Suplemento oral de potasio, mEq/kg/día **	2,5 (2-4,4)	49 (100%)	3 (1,7-5,3)	48 (98%)	ns
Alcalosis metabólica , pH > 7,45 y HCO ₃ (mEq/l) en RNPT: > 18; 0-2 años: > 22; 2-18 años: > 24; > 18 años: > 26 mEq/l.	-	49 (100%)	-	49 (100%)	-
- pH en plasma *, VN 7,35-7,45	7,5 ± 0,1	-	7,46 ± 0,05	-	ns
- Bicarbonato (mEq/l) *, VN: RNPT 16-18, RNT 16- 22, 0 y 2 años 18-22, 2-18 años 22-24 y ≥ 18 años 24-26	33 ± 6	-	30 ± 3	-	ns
Natremia (mEq/l) *, VN 135-145 mEq/l	134 ± 5	-	138 ± 2	-	< 0,001

- Hiponatremia (< 135 mEq/l)	-	19 (39%)	-	0 (0%)	0,006
- Suplementos orales de sodio	-	19 (39%)	-	6 (12%)	0,008
Excreción fraccionada de sodio en orina (%) , VN RNPT < 5%, RNT, niños, adultos <1%	1,5 ± 1 *	30 (61%) [∞]	-	-	-
Excreción fraccionada de potasio en orina (%) , VN 10-15%	32 ± 18 *	39 (80%) [∞]	-	-	-
Excreción fraccionada de cloro en orina (%) , VN <1%	1,6 ± 1 *	25 (51%) [∞]	-	-	-
Calcemia (mg/dl) *, VN: RN 7,6-10,5; niños/adultos 8,5-10	10,3 ± 0,5	-	10,3 ± 0,4	-	ns
-Hipercalcemia, por encima del VN	-	2 (4%)	-	0 (0%)	ns
Calciuria , VN: índice calcio/creatinina (mg/mg): 0-6 meses: < 0,8; 6 meses-2 años: < 0,5; >2 años: < 0,2					
- Hipercalciuria (por encima del límite del VN)	-	16 (33%)	-	10 (20%)	ns
- Hipocalciuria (índice calcio/creatinina < 0,04 mg/mg)	-	5 (10%)	-	11 (30%)	0,008
Magnesemia (mg/dl) *, VN: RN 1,2-2,2; niños/adultos 1,6-2,5	2,1 ± 0,4	-	2 ± 0,5	-	ns
- Hipomagnesemia, RN < 1,2; niños/adultos < 1,6	-	4 (8%)	-	0 (0%)	ns
- Suplementos orales de magnesio	-	4 (8%)	-	14 (28%)	0,004

VN: valor normal, RN: recién nacido, RNPT: recién nacido pretérmino. ND: no determinado

* Valor expresado en media ± desviación estándar

** Valor expresado en mediana (P25-75)

[∞] Número de pacientes con valores por encima del valor normal.

Por otro lado, la mediana de dosis de potasio oral que recibían los pacientes al final del estudio fue de 3 mEq/kg/día (1,7-5,3), el 91% recibían cloruro potásico y el 9% hidrogenocarbonato de potasio con ácido ascórbico. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la mediana dosis de potasio oral que recibían los pacientes al diagnóstico de la enfermedad y al final del estudio. Al final del estudio, 34/47 (72%) pacientes recibían una dosis entre 0 y 5 mEq/kg/día, y 12/47 pacientes (26%) recibían una dosis entre 5 y 10 mEq/kg/día. Un paciente (2%) recibía una dosis mayor de 10 mEq/kg/día, concretamente de 20 mEq/kg/día. Este paciente era SOR 90 que, como se ha comentado anteriormente, al diagnóstico recibía la misma dosis de potasio oral. La kalemia al final del estudio de este paciente fue de 2,6 mEq/l y se trataba de un paciente que precisó múltiples ingresos por hipopotasemia severa en contexto de una mala adherencia terapéutica.

Se analizó si existía alguna relación entre la dosis de potasio que recibían los pacientes (0-5 mEq/kg/día y 5-10 mEq/kg/día) y la kalemia al final del estudio. La kalemia media de los pacientes que recibían suplementos de potasio entre 0 y 5 mEq/kg/día fue de $3,2 \pm 0,3$ mEq/l, y la kalemia media de los pacientes que recibían entre 5 y 10 mEq/kg/día fue de $2,8 \pm 0,4$ mEq/kg/día. Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p=0,07$). Por último, tres pacientes de la cohorte (SOR 73, SOR 97 y SOR 137) presentaron diarreas asociadas a la suplementación oral del potasio que mejoraron tras disminuir la dosis.

c) Alteraciones del pH y del bicarbonato en plasma al diagnóstico clínico de la enfermedad y al final del estudio

Todos los pacientes de la cohorte presentaron una alcalosis metabólica al diagnóstico ($\text{pH} > 7,45$, y bicarbonato > 18 mEq/l en el recién nacido pretérmino, > 22 mEq/l entre 0 y 2 años, > 24 mEq/l entre 2 y 18 años, > 26 mEq/l en mayores de 18 años). La media del pH en plasma de toda la cohorte al diagnóstico clínico de la enfermedad fue $7,5 \pm 0,1$, y la media del bicarbonato en plasma de 33 ± 6 mEq/l. Al final del estudio, la alcalosis metabólica persistió en todos los pacientes sin hallar variaciones significativas en los valores medios de pH ($7,46 \pm 0,05$) y de bicarbonato en plasma (30 ± 3 mEq/l) con respecto al diagnóstico. En el 46% de los pacientes los niveles de bicarbonato aumentaron entre 3 y 5 mEq/l a lo largo de la evolución, y en el 54% restante los valores de bicarbonato en plasma disminuyeron con una disminución de entre 2 y 22 mEq/l.

d) Alteraciones del sodio en plasma al diagnóstico clínico de la enfermedad y al final del estudio

La media de la natremia del total de la cohorte al diagnóstico de la enfermedad fue 134 ± 5 mEq/l (valor normal 135-145 mEq/l) y 19/49 (39%) pacientes presentaron hiponatremia < 135 mEq/l precisando iniciar suplementos orales de sodio. Al final del estudio, la natremia media de la cohorte aumentó significativamente con respecto al diagnóstico (138 ± 2 mEq/l) ($p < 0,001$). Además, ningún paciente presentó hiponatremia y el número de pacientes que recibían suplementos orales de cloruro sódico disminuyó significativamente (39% vs. 12%) ($p=0,008$). Los pacientes que recibían suplementos orales de cloruro sódico al final del estudio eran pacientes pediátricos que tenían entre 4 y 10 años de edad.

e) Pérdida de sodio, potasio y cloro por orina al diagnóstico de la enfermedad

La media de la excreción fraccionada de sodio de la cohorte al diagnóstico clínico de la enfermedad fue $1,5 \pm 1$ % (valor normal en recién nacido pretérmino $< 5\%$, RNT y niños, adultos $< 1\%$) y el 61% de la cohorte presentaron un valor de sodio en orina por encima del valor de normalidad. Así mismo, la media de excreción fraccionada de potasio en orina al diagnóstico clínico de la enfermedad fue 32 ± 18 % (valor normal 10-15%) y el 80% de la cohorte presentó un valor por encima del valor de normalidad. Por último, la media de la excreción fraccionada de cloro en orina al diagnóstico fue $1,6 \pm 1$ % (valor normal $< 1\%$) y el 51% presentaron un valor de cloro en orina por encima de la normalidad.

f) Alteraciones del calcio en plasma y en orina al diagnóstico clínico de la enfermedad y al final del estudio

La calcemia media de la cohorte (valor normal en recién nacidos 7,6-10,5 mg/dl, y en niños y adultos 8,5-10 mg/dl) no presentó variaciones significativas a lo largo de la evolución de la enfermedad (al diagnóstico $10,3 \pm 0,5$ mg/dl vs. al final del estudio $10,3 \pm 0,4$ mg/dl). Dos pacientes presentaron una hipercalcemia al diagnóstico. El paciente SOR 67 se diagnosticó a los 4 meses de vida y presentó un calcio de 11,8 mg/dl, y la paciente SOR 97 se diagnosticó al mes de vida y presentó un calcio de 11,6 mg/dl asociando además una hiper calciuria. Ninguno de los dos pacientes desarrolló nefrocalcinosis. En todos los pacientes, incluidos SOR 67 y

SOR 97, la calcemia fue normal al final del estudio. No se recogieron datos del fósforo ni de la parathormona en plasma en ningún paciente de la cohorte.

Por otro lado, en 16/49 (33%) pacientes de la cohorte se halló una hipercalcemia al diagnóstico (valor normal del índice de calcio/creatinina en mg/mg: 0-6 meses: 0,04-0,8; 6 meses-2 años: 0,04-0,5; >2 años: 0,04-0,2). Entre ellos, en cinco pacientes se halló una nefrocalcinosis en la ecografía renal (los pacientes de la cohorte que presentaron nefrocalcinosis se describen en el apartado 3.5). Por otro lado, 5/49 (10%) pacientes de la cohorte presentaron hipocalcemia al diagnóstico de la enfermedad. Por último, en los 28/49 (57%) pacientes restantes la calcemia fue normal. Al final del estudio, no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de pacientes que presentaron hipercalcemia con respecto al diagnóstico (al diagnóstico 33% vs. al final del estudio 20%). Sin embargo, el porcentaje de pacientes con hipocalcemia aumentó significativamente con respecto al diagnóstico (al diagnóstico 10% vs. al final del estudio 30%; $p=0,008$). En el resto de los pacientes de la cohorte (50%) la calcemia fue normal al final del estudio.

g) Alteraciones del magnesio en plasma al diagnóstico clínico de la enfermedad y al final del estudio

El magnesio medio de la cohorte al diagnóstico de la enfermedad fue $2,1 \pm 0,4$ mg/dl (valor normal en recién nacidos 1,2-2,2 mg/dl y en niños/adultos 1,6-2,5 mg/dl) y en 4/49 (8%) pacientes se observó una hipomagnesemia precisando iniciar suplementos orales de magnesio. Aparte de estos cuatro pacientes, un paciente (SOR 3) presentó una hipomagnesemia particularmente baja (0,9 mg/dl) que se corrigió en las primeras semanas tras iniciar el tratamiento manteniendo posteriormente un magnesio normal en plasma sin precisar suplementos. Al final del estudio, aunque la media del magnesio en plasma de la cohorte ($2 \pm 0,5$ mg/dl) fue similar a la del diagnóstico, un porcentaje significativamente mayor de pacientes recibían suplementos orales respecto al diagnóstico (al diagnóstico 8% vs. al final del estudio 28%; $p=0,004$).

3.4.2. Comparación de las alteraciones hidroelectrolíticas al diagnóstico clínico de la enfermedad según la edad de los pacientes

Se compararon los valores de potasio, sodio, cloro y bicarbonato en plasma al diagnóstico clínico de la enfermedad según la edad de los pacientes. Para ello dividimos a los pacientes en dos grupos: 1) Pacientes igual o menores de 2 años al diagnóstico 2) Pacientes mayores de 2 años al diagnóstico. En la Tabla 12 se resumen los resultados.

Por un lado, no se hallaron diferencias significativas en los niveles de potasio en plasma entre ambos grupos de pacientes. Sin embargo, en los pacientes que al diagnóstico tenían una edad igual o menor de 2 años la natremia media fue significativamente menor (132 ± 5 mEq/l) que la de los pacientes mayores de 2 años (135 ± 4 mEq/l) ($p=0,028$). Así mismo, el porcentaje de pacientes con hiponatremia ≤ 130 mEq/l fue significativamente mayor en los pacientes menores de dos años (48%) que en los pacientes mayores de 2 años (14%) ($p=0,026$). No existían diferencias significativas en el número de pacientes con hipocloremia entre ambos grupos, pero la cloremia media fue significativamente menor en el grupo de pacientes que eran igual o menores de 2 años al diagnóstico (84 ± 5 mEq/l) que en los mayores de 2 años (90 ± 5 mEq/l) ($p=0,039$). Igualmente, la media del bicarbonato en plasma fue significativamente mayor en los pacientes igual o menores de dos años (34 ± 7 mEq/l) que en los pacientes mayores de 2 años de edad (30 ± 4 mEq/l) ($p=0,043$).

Por otro lado, la media del magnesio en plasma al diagnóstico en los pacientes mayores de 2 años fue significativamente menor ($2,1 \pm 0,5$ mg/dl) que la de los pacientes menores de 2 años ($1,8 \pm 0,5$ mg/dl) ($p=0,049$). Así mismo, el porcentaje de pacientes con hipomagnesemia fue significativamente mayor en los pacientes mayores de dos años (46%) que en los que tenían una edad igual o menor de 2 años al diagnóstico (3%) ($p=0,001$).

Tabla 12. Comparación de las alteraciones hidroelectrolíticas en plasma al diagnóstico clínico de la enfermedad según la edad de los pacientes (n=49 pacientes)

	Edad al diagnóstico				Valor p
	≤ 2 años n= 35		> 2 años n=14		
	Valor	Nº Pacientes	Valor	Nº Pacientes	
Potasio en plasma (mEq/l) * VN > 3,5-4,5 mEq/l	2,5 ± 0,5	-	2,2 ± 0,3		ns
Sodio en plasma (mEq/l) * VN 135-145 mEq/l	132 ± 5	-	135 ± 4		0,028
Hiponatremia (< 135 mEq/l)	-	17 (48%)	-	2 (14%)	0,026
Cloro en plasma (mEq/l) * VN > 95-105 mEq/l	84 ± 5		90 ± 5		0,039
Hipocloremia (≤ 95 mEq/l)	-	27 (77%)	-	10 (71%)	ns
Bicarbonato en plasma (mEq/l) * VN: RNPT 16-18, RNT 16- 22, 0 y 2 años 18-22, 2-18 años 22-24 y ≥ 18 años 24-26	34 ± 7		30 ± 4		0,043
Magnesio en plasma (mg/dl) * VN: RN 1,2-2,2; niños/adultos 1,6-2,5	2,1 ± 0,5	-	1,8 ± 0,5	-	0,049
Hipomagnesemia, RN < 1,2 mg/dl; niños/adultos < 1,6 mg/dl	-	1 (3%)	-	6 (46%)	0,001
EF de sodio en orina (%) ** VN < 1% en RNT, niños y adultos, y < 5% en RNPT	1,4 (1,2-1,8)			0,5 (0,2-1,6)	ns
Valores anormales de EF de sodio, por encima del VN		22 (63%)		8 (57%)	ns
EF de potasio en orina (%) ** VN 10-15%	35 (19-44)		26 (19-50)		ns
Valores anormales de EF de K en orina, por encima del VN (> 15%)		29 (82%)		10 (71%)	ns
EF cloro en orina (%) ** VN < 1%	1,7 (0,8-2,2)		1 (0,5-2)		ns
Valores anormales de EF de Cl en orina, por encima del VN		19 (54%)		6 (42%)	ns

VN: valor normal. RN: Recién nacido. RNT: recién nacido a término. RNPT: recién nacido pretérmino. EF: excreción fraccionada

* Valor expresado en media ± desviación estándar

** Valor expresado en mediana (P25-75)

Finalmente, no se hallaron diferencias significativas entre los valores de excreción fraccionada de sodio, potasio y cloro en orina entre ambos grupos de edad, ni tampoco en el porcentaje de pacientes que presentaron valores por encima de la normalidad de estos iones en orina.

En resumen, en relación a las alteraciones hidroelectrolíticas, la mayor parte de los pacientes presentaron hipocloremia al diagnóstico, y la mitad normalizan la cloremia a lo largo del seguimiento. Así mismo, menos de la mitad de los pacientes presentaron hiponatremia al diagnóstico, y el número de pacientes que precisa suplementos orales de sodio disminuye con el tiempo.

Al diagnóstico, todos los pacientes presentaron hipokalemia que mejoró a lo largo del seguimiento con el tratamiento. Sin embargo, en la mayoría de los pacientes, los niveles de potasio en plasma seguían bajos, y no se observó una relación significativa entre la kalemia y la dosis de potasio que recibían. Así mismo, todos los pacientes tenían alcalosis metabólica. Si bien los niveles de bicarbonato en plasma disminuyeron con el tiempo, en todos los pacientes persistía una alcalosis metabólica al final del estudio.

Por otro lado, aunque globalmente los niveles de magnesio en plasma fueron normales, con el tiempo, un número mayor de pacientes precisaban suplementos de magnesio. Por último, en general, los pacientes no presentaron alteraciones del calcio en plasma. Casi la mitad presentaron normocalciuria y un tercio hipercalciuria. Sin embargo, a lo largo de la evolución, un número mayor de pacientes presentaron hipocalciuria.

Finalmente, se observó que los pacientes que eran igual o menores de 2 años al diagnóstico presentaron una natremia y una cloremia menor, así como un bicarbonato en plasma mayor que los pacientes mayores de dos años.

3.5. Nefrocalcinosis, litiasis y otras malformaciones renales en la ecografía renal

En nuestro estudio, se recogió si los pacientes presentaban alteraciones renales en el parénquima renal o en la vía urinaria en la ecografía realizada al diagnóstico de la enfermedad y al final del estudio. En total obtuvimos datos de 46 de los 49 pacientes de nuestra cohorte. En la Tabla 13 se representa el número de pacientes con cada anomalía renal al diagnóstico de la enfermedad y al final del estudio.

Tabla 13. Número de pacientes al diagnóstico y al final del estudio con anomalías en la ecografía renal (n=46).

	Nº pacientes (%) al diagnóstico	Nº pacientes (%) al final del estudio
Nefrocalcinosis	4 (9%)	7 (15%)
Litiasis	4 (9%)	3 (6,5%)
Riñones hiperecogénicos	6 (13%)	4 (9%)
Quistes renales	0 (0%)	2 (4,5%)

Además de los hallazgos citados en la tabla, en 2 (4%) pacientes se observaron malformaciones renales congénitas del riñón y del tracto urinario. Ver descripción al final del este apartado.

Por un lado, 7/46 (15%) pacientes presentaban una nefrocalcinosis medular bilateral en la ecografía renal. Las características clínicas de estos pacientes se resumen en la Tabla 14. En 4 de los 7 pacientes (SOR 5, SOR 57, SOR 90, SOR 100), la nefrocalcinosis estuvo presente desde el diagnóstico de la enfermedad y todos asociaban hipercalcemia en ese momento. Los otros tres pacientes de la cohorte que presentaron nefrocalcinosis (SOR 48, SOR 80, SOR 137), presentaron una ecografía normal al diagnóstico y desarrollaron la nefrocalcinosis a lo largo de la evolución. Al final del estudio, en el paciente SOR 48 la calciuria era normal, en el paciente SOR 80 presentaba hipocalciuria y el paciente SOR 137 presentaba hipercalcemia. En los tres pacientes, la edad a la que iniciaron la nefrocalcinosis así como los valores de la calciuria a lo largo de la evolución fueron desconocidos.

Tabla 14. Características clínicas de los pacientes que desarrollaron nefrocalcinosis (n=7 pacientes)

Paciente	Fenotipo clínico de presentación	PH	EG (semanas)	Edad Diagn. SBIII	Edad final del estudio	Índice ca/cr Diagn/final estudio	Enfermedad renal crónica	Otras características en la ecografía
SOR 5	Antenatal	si	40	3 años	32 años	0,43/0,15	si	Litiasis coraliforme bilateral
SOR 48	Antenatal	si	42	1 año	25 años	0,5/0,06	no	-
SOR 57	Antenatal	si	36	8 meses	10 años	0,65/0,05	no	Riñones hiperecogénicos
SOR 80	Clásico	no	42	6 años	20 años	0,06/ 0,02	si	-
SOR 90	Clásico	no	39	6 meses	8 años	2/0,3	no	-
SOR 100	Clásico	ND	ND	26 años	61 años	0,4/0,2	si	-
SOR 137	Antenatal	si	33	6 meses	2,5 años	2/0,8	no	-

PH: presencia o ausencia de polihidramnios. **EG:** edad gestacional en semanas. **Diagn.:** diagnóstico. **SBIII:** Síndrome de Bartter Tipo III. **Índice de ca/cr:** calcio/creatinina (mg/mg). **ND:** No determinado
 - Se consideró hipercalciuria cuando el índice de calcio/creatinina está por encima de la normalidad (expresados en negrita). Valores normales: 0-6 meses índice 0,04-0,8 mg/mg; 6-12 meses 0,04-0,6 mg/mg; 12-24 meses 0,04-0,5 mg/mg; > 24 meses 0,04-0,2 mg/mg. Se definió hipocalciuria: índice de calcio/creatinina < 0,04 mg/mg (en negrita en la tabla)
 - En la columna de la edad al diagnóstico de Síndrome de Bartter Tipo III: se expresan en negrita los pacientes en los que la nefrocalcinosis estuvo desde el diagnóstico clínico de la enfermedad.
 - En la columna de Edad al final del estudio: se expresan en negrita aquellos pacientes en los que la ecografía fue normal al diagnóstico, pero al final del estudio presentaban nefrocalcinosis.

Entre los 7 pacientes con nefrocalcinosis de nuestra cohorte, 3 (42%) pacientes presentaron un fenotipo clínico de Síndrome de Bartter Clásico y 4 (58%) pacientes un fenotipo clínico de Síndrome de Bartter Antenatal o Neonatal. Además, tres pacientes (SOR 5, SOR 80, SOR 100) asociaban una enfermedad renal crónica.

Aparte de los pacientes con nefrocalcinosis comentados, el paciente SOR 132 nació a las 33 semanas de gestación y presentó una nefrocalcinosis medular bilateral en contexto de la prematuridad que desapareció en el primer año de vida. Al final del estudio, a los 4 años de edad, la ecografía renal era normal (este paciente no se muestra en la Tabla 13 y 14).

Por otro lado, 4 pacientes (9 %) de la cohorte presentaron litiasis: **a)** El paciente SOR 62, diagnosticado a los 3 años de edad con fenotipo clínico de Síndrome de Bartter Clásico presentó una única litiasis unilateral en el parénquima renal de 4 mm al diagnóstico que desapareció a lo largo de la evolución. Asociaba, además, una hipercalciuria al diagnóstico que persistía al final del estudio; **b)** El paciente SOR 51 diagnosticado a los 25 años de edad con fenotipo clínico de Síndrome de Gitelman y con una enfermedad renal crónica, presentaba una única litiasis unilateral de tamaño desconocido en el parénquima renal que persistía tras un tiempo de seguimiento de 23 años. Además, asociaba una hipercalciuria; **c)** El paciente SOR 45, diagnosticado a los 8 meses de edad con un fenotipo clínico antenatal con polihidramnios, presentó una única litiasis unilateral de 10 mm en el parénquima renal a los 16 meses de edad en contexto de infecciones urinarias, que precisó la realización de una litotricia extracorpórea. La calciuria era normal al diagnóstico, pero desarrolló una hipercalciuria a lo largo de la evolución; **d)** La paciente SOR 5 diagnosticada a los 3 años de edad con fenotipo clínico antenatal, además de una nefrocalcinosis bilateral, presentó una litiasis coraliforme bilateral en la infancia en contexto de infecciones de orina de repetición por *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis* precisando litotricia extracorpórea en dos ocasiones en cada riñón. Además, a los 30 años de edad presentó un episodio de obstrucción de la vía urinaria por litiasis bilaterales con colocación de una nefrostomía en un lado y un catéter doble J en la vía urinaria del otro lado. No presentó hipercalciuria. Así mismo, presentó un deterioro crónico de la función renal (ver apartado 3.7. donde se describen los detalles de los pacientes con enfermedad renal crónica de nuestra cohorte). En ninguno de los casos que presentaron litiasis renal se obtuvo el análisis de la composición del cálculo, ni tampoco se obtuvieron datos de otros factores de riesgo en orina, excepto la hipercalciuria que pudieran facilitar la formación de los cálculos en estos pacientes.

Aparte de la nefrocalcinosis, 7 pacientes (14%) presentaron una hiperecogenicidad renal bilateral en la ecografía. En la Tabla 15 se describen las características de estos pacientes. Todos presentaron un fenotipo clínico antenatal salvo un paciente (SOR 163) que presentó un fenotipo clínico clásico. Entre los 7 pacientes de la cohorte con hiperecogenicidad renal bilateral, en 6 pacientes estuvo presente al diagnóstico de la enfermedad: en tres de ellos (SOR 3, SOR 9, SOR 57) persistía al final del estudio, y en los otros tres (SOR 104A, SOR 104B, SOR 163) la hiperecogenicidad desapareció tras inicio del tratamiento. Por último, el paciente SOR 186 presentó una insuficiencia renal aguda en contexto de deshidratación (Cr 0,6 mg/dl a los 8 meses de edad). En ese momento la ecografía fue normal, sin embargo, desarrolló posteriormente una hiperecogenicidad renal bilateral. Al final del estudio tenía 1,5 años de edad. Además, entre todos los pacientes que presentaron una hiperecogenicidad renal bilateral en la ecografía, dos (SOR 3 y SOR 9) asociaban una enfermedad renal crónica.

Por otro lado, dos pacientes (4%) de la cohorte presentaban quistes al final del estudio. Un paciente (SOR 114) presentaba quistes corticales < 1 cm en el parénquima de ambos riñones tras un tiempo de evolución de 28 años. Por otro lado, la paciente SOR 3, además de una hiperecogenicidad renal bilateral presente desde el diagnóstico de la enfermedad, presentaba un quiste simple de 4 mm en el polo inferior del riñón izquierdo al final del estudio tras 34 años de seguimiento de la enfermedad.

Por último, en nuestro estudio, 2/46 (4%) pacientes presentaban malformaciones congénitas del riñón y del tracto urinario denominados CAKUT (del inglés, *Congenital Anomalies of Kidney and Urinary Tract*). De ellos, un paciente (SOR 81) presentaba una hidronefrosis leve sin reflujo vesicoureteral, y otro paciente (SOR 47) presentaba un riñón en herradura sin otras complicaciones asociadas.

Tabla 15. Características clínicas de los pacientes con hiperecogenicidad renal bilateral en la ecografía (n=7)

Paciente	Fenotipo clínico de presentación	PH	Edad gestacional (semanas)	Edad diagnóstico SBIII	Edad final del estudio (años)	IRA al diagnóstico	ERC	Otras características
SOR 3	Antenatal	si	36	6 años	34	no	si	S. Fanconi Quiste simple RI
SOR 9	Antenatal	si	36	2 años	48	no	si	-
SOR 57	Antenatal	si	36	8 meses	10	no	no	Nefrocalcinosis
SOR 104A	Antenatal	si	39	2 meses	17	no	no	Desaparece hiperecogenicidad renal
SOR 104B	Antenatal	si	34	3 días	13	no	no	Desaparece hiperecogenicidad renal
SOR 163	Clásico	No	40	14 años	15	no	no	Desaparece hiperecogenicidad renal
SOR 186	Antenatal	si	39	8 meses	1,5	si	no	-

SBIII: Síndrome de Bartter Tipo III. **RI:** Riñón izquierdo. **IRA:** insuficiencia renal aguda. **ERC:** enfermedad renal crónica. **PH:** polihidramnios.

En la columna de la edad al diagnóstico de Síndrome de Bartter Tipo III: se expresan en negrita los pacientes en los que la hiperecogenicidad renal estuvo presente al diagnóstico de la enfermedad.

En la columna de Edad al final del estudio: se expresan en negrita aquellos pacientes con hiperecogenicidad renal al final del estudio.

En resumen, en relación a las alteraciones renales halladas en la ecografía renal, el 14% de nuestra cohorte presentó nefrocalcinosis y el 9% litiasis renal. Por otro lado, el 14% de la cohorte presentó una hiperecogenicidad del parénquima renal bilateral, en algunos casos de manera transitoria. Por último, el 4% de los pacientes asociaban quistes renales y el 4% una malformación congénita del riñón y del tracto urinario.

En resumen, la nefrocalcinosis fue poco frecuente de nuestra cohorte. Un número pequeño de pacientes presentaron hiperecogenicidad renal que, en algunos de ellos, desapareció con el tiempo. Así mismo, la asociación de anomalías congénitas del riñón y del tracto urinario fue poco frecuente.

3.6. Desarrollo ponderoestatural de la cohorte

En nuestro estudio se recogió el peso y la talla que presentaron los pacientes al diagnóstico de la enfermedad y al final del estudio. Así mismo, en los casos pediátricos se analizó la evolución del peso y de la talla a lo largo del seguimiento de la enfermedad. Finalmente, se estudiaron los posibles factores que podrían estar relacionados con el bajo peso o la talla baja final de los pacientes de la cohorte.

3.6.1. Peso de la cohorte al diagnóstico y a lo largo de la evolución

a) Descripción del peso de todos los pacientes de la cohorte al diagnóstico de la enfermedad y al final del estudio

Para valorar el peso de los pacientes pediátricos se calculó el *z-score*, y en los pacientes adultos el peso se valoró mediante el cálculo del índice de masa corporal. Al diagnóstico de la enfermedad, entre los 49 pacientes de nuestra cohorte, 46 pacientes eran pediátricos (0-18 años) y 3 pacientes eran adultos (> 18 años de edad). La mediana del *z-score* del peso al diagnóstico de los pacientes pediátricos fue -2,4 (-3,4 – -1,3) DE. De ellos, 28/46 (60%) presentaron un peso patológico (*z-score* ≤ -2 DE), y 18/46 (40%) pacientes tenían un peso normal (*z-score* > -2 DE). Cabe destacar que, entre todos los pacientes pediátricos con peso patológico al diagnóstico, 10 pacientes presentaron un *z-score* de peso ≤ -4 DE al diagnóstico, y todos estos eran igual o menores de 2 años. Además, un paciente (SOR 47) diagnosticado a los 7 meses de edad con un *z-score* de peso de - 4 DE precisó alimentación por gastrostomía durante la época

de lactante. Por otro lado, entre los 3 pacientes que eran adultos al diagnóstico, se obtuvieron los valores de índice de masa corporal en dos de ellos: un paciente tenía un IMC de 22 kg/m² y el otro de 23 kg/m². Ambos tenían un peso dentro de la normalidad.

Al final del estudio, 29/49 (59%) eran pacientes pediátricos (< 18 años) y 20/49 (41%) eran pacientes adultos (≥18 años). Entre los 29 pacientes pediátricos, obtuvimos el valor del peso en 27 pacientes: 9/27 (33%) tenían un peso patológico y 18/27 (67%) tenían un peso normal. Por otro lado, entre los 20 pacientes que eran adultos al final del estudio, obtuvimos el valor de índice de masa corporal en 15 pacientes. De ellos, 11/15 (73%) pacientes tenían un peso normal con un IMC entre 18,5 y 24,9 kg/m². Por otra parte, 2/15 (13%) pacientes tenían sobrepeso con un IMC entre 25 y 29,9 kg/m², 1/15 (7%) paciente tenía un peso inferior a la normalidad (IMC < 18,5 kg/m²) con un IMC 17 kg/m², y 1/15 (7%) paciente tenía una obesidad (IMC > 30 kg/m²) con un IMC de 34 kg/m². Este último paciente (SOR 51), comentado anteriormente, asociaba una pancreatitis crónica secundaria a un etilismo crónico, una dislipemia crónica y una broncopatía crónica. Este paciente se describe en el apartado 3.7, donde se describen los pacientes con enfermedad renal crónica de nuestra cohorte.

b) Descripción de la evolución del peso de los pacientes pediátricos a lo largo de la evolución de la enfermedad. Análisis de los factores relacionados con el bajo peso a largo plazo

Para analizar la evolución del peso a lo largo de la evolución de la enfermedad se seleccionaron aquellos pacientes que eran pediátricos al final del estudio y que tenían un tiempo de seguimiento de la enfermedad mayor de dos años. Comparamos el *z-score* de peso que presentaron estos pacientes al final del estudio con el *z-score* de peso que presentaron al diagnóstico de la enfermedad.

En total, analizamos la evolución del peso de 23 pacientes. Al diagnóstico de la enfermedad, la mediana del *z-score* del peso al diagnóstico fue -2,5 (-3,4 – -1,3) DE, y al final del estudio de -1 (-2 – -0,3) DE, siendo estas diferencias estadísticamente significativas (p<0,001) (Figura 21). La mediana del tiempo de evolución de la enfermedad de los pacientes fue de 7,7 (5-11,6) años.

Entre los 23 pacientes en los que se estudió la evolución del peso, en 19/23 (83%) se observó un aumento en el z -score del peso a lo largo de la evolución. En los 4/23 (17%) pacientes restantes se observó un descenso del z -score del peso al final del estudio. Estos últimos pacientes eran SOR 45, SOR 97, SOR 114 y SOR 143, y se diagnosticaron entre los 12 días y los 6 meses de vida con un peso normal en ese momento (z -score de peso entre $-1,5$ – $+2$ DE). Al final del estudio eran pacientes que tenían entre 4,5 y 13 años de edad con un z -score de peso entre $-1,8$ y $-3,4$ DE y, además, asociaban un retraso de crecimiento.

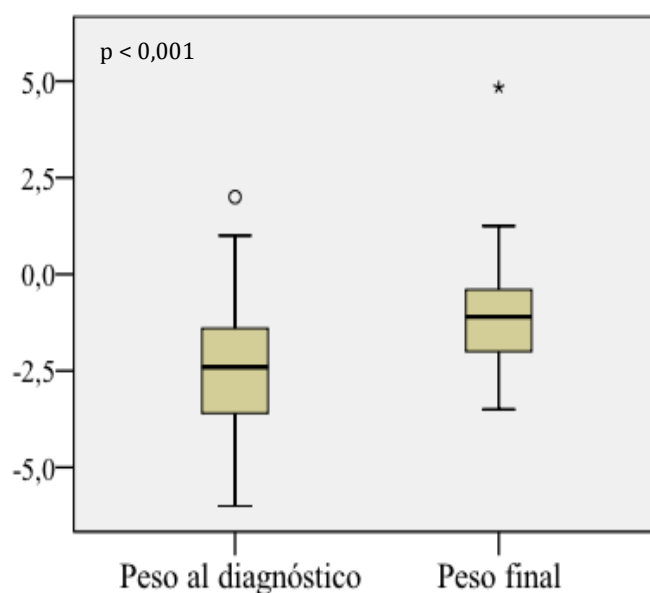


Fig. 21. Comparación del peso al diagnóstico de la enfermedad y al final del estudio representado mediante diagrama de cajas.

La mediana del z -score del peso al final del estudio fue mayor [z -score mediana -1 (-2 – $-0,3$) DE] que la mediana de peso al diagnóstico [z -score mediana $-2,5$ ($-3,4$ – $-1,3$) DE] ($p < 0,001$). ° Valor más alejado del P75, que se sitúan a más de 1,5 veces de la longitud de la caja (rango intercuartílico P75-P25). * Valor más alejado del P75, a más de 3 veces de la longitud de la caja (rango intercuartílico P75-25).

Por otro lado, se estudiaron los factores que podrían tener relación con un bajo peso a largo plazo (Tabla 16). Al final del estudio, entre los 23 pacientes en los que se analizó la evolución del peso, 9/23 (39%) tenían un peso patológico con un z -score de peso igual o menor -2 DE, y 14/23 (61%) pacientes presentaron un peso normal con un z -score de peso mayor de -2 DE. Los pacientes con peso patológico al final del estudio tenían una mediana de edad al diagnóstico significativamente menor [0,09 (0,01– 0,5) años] que los pacientes con peso normal al final del estudio [0,6 (0,5 – 0,8) años] ($p = 0,046$). Sin embargo, el tiempo de evolución era similar en ambos grupos de pacientes [7,4 (4-10) años vs. 8,4 (5-13) años].

Tabla 16. Análisis de los factores relacionados con el bajo peso a largo plazo (n=23)

	Al final del estudio				Valor P
	Peso patológico <i>z-score</i> ≤ -2 DE n=9		Peso normal <i>z-score</i> > -2 DE n=14		
	Valor	Nº Pacientes	Valor	Nº Pacientes	
Edad diagnóstico, años **	0,09 (0,01 - 0,5)	-	0,6 (0,5 – 0,8)	-	0,046
Tiempo evolución, años **	7,4 (4-10)		8,4 (5-13)	-	ns
Electrolitos en plasma al diagnóstico					
Kalemia (mEq/l) * VN > 3,5-4,5	2,3 ± 0,6	-	2,4 ± 0,6	-	ns
Natremia (mEq/l) * VN 135-145	129 ± 4	-	132 ± 5	-	ns
Hiponatremia, <135 mEq/l	-	7 (78%)	-	6 (43%)	ns
Cloremia (mEq/l) * VN > 95-105	86 ± 5	-	88 ± 6	-	ns
Hipocloremia, ≤ 95 mEq/l	-	4 (44%)	-	5 (36%)	ns
Bicarbonato (mEq/l) * VN: RNPT 16-18, RNT 16- 22, 0 y 2 años 18-22, 2-18 años 22-24 y ≥ 18 años 24-26	39 ± 10		32 ± 4	-	ns
Enfermedad renal crónica	-	1 (11%)	-	1 (7%)	ns

VN: valor normal. RN: Recién nacido. RNPT: recién nacido pretérmino

* Valor expresado en media ± desviación estándar

** Valor expresado en mediana (P25-75)

Así mismo, se analizó si existía alguna relación entre la severidad de las alteraciones electrolíticas que presentaron los pacientes al diagnóstico y el peso a largo plazo. No se observaron diferencias significativas en la kalemia (2,3 ± 0,6 vs. 2,4 ± 0,6 mEq/l), la natremia (129 ± 4 vs. 132 ± 5 mEq/l) y el bicarbonato (39 ± 10 vs. 32 ± 4 mEq/l) en plasma, ni tampoco en el porcentaje de pacientes con hiponatremia (78% vs. 43%) e hipocloremia (44% vs. 36%) al diagnóstico.

Finalmente, se estudió si la enfermedad renal crónica tuvo alguna relación con la mala evolución del peso de los pacientes. No se hallaron diferencias significativas entre el grupo de pacientes con peso normal y el grupo de pacientes con bajo peso al final del estudio en cuanto a la proporción de pacientes con enfermedad renal crónica (11% vs. 7%).

En resumen, en relación al peso de los pacientes pediátricos, aproximadamente la mitad tenían un peso bajo al diagnóstico, y la mayoría mejoraron el peso a lo largo del tiempo. Los niños que se diagnosticaron a una edad más temprana presentaron un desarrollo ponderal peor. Sin embargo, no se observó ninguna relación entre el retraso ponderal y los niveles de electrolitos en plasma o la presencia de enfermedad renal crónica. La mayoría de los pacientes adultos de la cohorte presentaron un peso normal.

3.6.2. Crecimiento de la cohorte al diagnóstico y a lo largo de la evolución

En nuestro estudio, se valoró la talla de todos los pacientes calculando el *z-score* de la talla tanto al diagnóstico como al final del estudio. Se analizaron por separado los pacientes pediátricos y los adultos. Por un lado, en los pacientes que eran pediátricos al diagnóstico, por el potencial de crecimiento que presentan, se valoró la evolución de la talla a lo largo del seguimiento, comparando la talla que presentaron al diagnóstico con la talla final. Por otro lado, en los pacientes adultos, se valoró la talla comparándola con la talla de la población general y, en los casos en los que la talla de los progenitores estuvo disponible, se analizó si la talla final de los pacientes alcanzó la talla genética. Finalmente, se analizaron los posibles factores relacionados con una talla baja final en todos los pacientes de nuestra cohorte.

a) Evolución de la talla de los pacientes pediátricos de la cohorte

Al diagnóstico de la enfermedad, entre los 49 pacientes de nuestra cohorte, 46 pacientes eran pediátricos (0-18 años), y obtuvimos el valor *z-score* de talla al diagnóstico en todos los casos. La mediana del *z-score* de la talla al diagnóstico de estos pacientes fue -1,9 (-3,4 – -0,9) DE. De ellos, 23/46 (50%) pacientes presentaron una talla patológica con un *z-score* \leq -2 DE, y 23/46 (50%) pacientes presentaron una talla normal con un *z-score* $>$ -2 DE. Además, entre los 23 pacientes pediátricos con talla patológica, siete pacientes (SOR 50, SOR 80, SOR 109, SOR 124B, SOR 129, SOR 137, SOR 196) presentaron el retraso de crecimiento más severo

de toda la cohorte con un *z-score* de talla entre -4 DE y -5,3 DE. Estos pacientes fueron diagnosticados entre los 28 días de vida y los 6 años de edad con un fenotipo clínico antenatal o neonatal, o un fenotipo clásico.

Para analizar la evolución del crecimiento a lo largo del seguimiento, entre los 46 pacientes pediátricos, se seleccionaron aquellos pacientes que tenían un tiempo de seguimiento de la enfermedad mayor de 2 años en los que obtuvimos datos de la talla tanto al diagnóstico como al final del estudio. Por lo tanto, en total, se analizó la evolución del crecimiento en 36 pacientes. Al diagnóstico de la enfermedad, la mediana del *z-score* de talla de estos pacientes fue -2,4 (-2 - -1,2) DE y al final del estudio de -1,2 (-1,9 - -0,6) DE, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p=0,029$) (Figura 22). La mediana de tiempo de evolución de los 36 pacientes fue 12,1 (6,4-26,4) años.

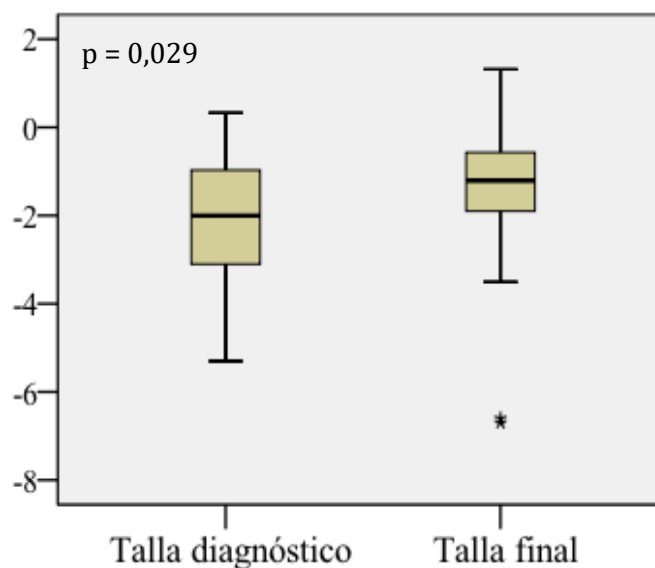


Fig. 22. Comparación de la talla al diagnóstico y al final del estudio mediante diagrama de cajas.

La mediana del *z-score* al final del estudio fue mayor [-1,2 (-1,9 - -0,6) DE] que la mediana de talla al diagnóstico al diagnóstico de la enfermedad [-2,4 (-2 - -1,2) DE]. Los pacientes mejoraron la talla de manera significativa a lo largo de la evolución de la enfermedad ($p=0,029$). * Valor más alejado del P25, a más de 3 veces de la longitud de la caja (rango intercuartílico P25-75).

A lo largo de la evolución, en 28/36 (77%) pacientes se observó una mejoría de la talla observando un aumento de *z-score* al final del estudio respecto al diagnóstico. Por el contrario, en 8/36 (23%) pacientes se observó un estancamiento o un empeoramiento de la talla (SOR 84,

SOR 90, SOR 97, SOR 104, SOR 114, SOR 123, SOR 124A, SOR 143). Estos últimos 8 pacientes fueron diagnosticados entre el primer día y los 6 meses de edad con un *z-score* de talla entre -4 y +0,6 DE. Al final del estudio tenían entre 4 y 13 años de edad y un *z-score* de talla entre -1,5 y -6,7 DE. Entre ellos, dos pacientes tuvieron muy mala adherencia al tratamiento (SOR 90 y SOR 123). El paciente SOR 90 presentó un *z-score* de talla al diagnóstico de -1,4 DE, y al final del estudio, tras un tiempo de seguimiento de 7 años, su *z-score* de talla era de -6,7 DE. Por otro lado, el paciente SOR 123 presentó un *z-score* de talla al diagnóstico de -2,3 DE. Al final del estudio, tras un tiempo de seguimiento de 12 años, su *z-score* de talla era -6,6 DE y además presentaba una enfermedad renal crónica. Ningún paciente de la cohorte recibió hormona de crecimiento a lo largo de la evolución de la enfermedad.

b) Valoración de la talla en los pacientes adultos de nuestra cohorte

Se analizó la talla de los pacientes adultos de nuestra cohorte comparándola con la talla de referencia de la población general en cada sexo (282). Al final del estudio, 20 pacientes de la cohorte eran adultos, y obtuvimos datos de la talla en 16 de ellos, de los cuales 11 eran mujeres y 5 eran hombres. La mediana del *z-score* de la talla al diagnóstico de estos pacientes fue -0,5 (-1 – +0,5) DE. Las mujeres presentaron una mediana de *z-score* de talla de + 0,12 (-0,5 – 0,65) DE y los hombres de - 1 (-2 – -0,6) DE. Solamente dos pacientes (12%), ambos varones, se encontraban por debajo del valor de referencia poblacional. Por un lado, el paciente SOR 23, diagnosticado al año y 9 meses de edad presentó mala adherencia terapéutica a lo largo de la evolución. Al final del estudio tenía 28 años de edad, una talla de 163 cm con un *z-score* de - 2,1 DE y su función renal era normal. Por otro lado, el paciente SOR 129, fue diagnosticado a los 3 años de edad y precisó hospitalizaciones en múltiples ocasiones por hipopotasemia severa. Al final del estudio tenía 22 años de edad, una talla de 155,5 cm con un *z-score* de -3,4 DE y su función renal fue normal.

Así mismo, entre los 20 pacientes que eran adultos al final del estudio, en 10 pacientes se calculó la talla diana a partir de la talla de los progenitores, y se comparó la talla final de estos pacientes con la talla genética. Se observó que todos los pacientes menos dos (70%) alcanzaron la talla genética. Los pacientes SOR 129 y SOR 54B no alcanzaron la talla diana. El paciente SOR 129, comentado en el párrafo anterior, presentó una talla baja con respecto a la población general (155,5 cm), y no alcanzó la talla genética (181 ± 5 cm).

Por otro lado, el paciente SOR 54B era un paciente diagnosticado a los 4 meses de edad que al final del estudio tenía 36 años de edad con una talla de 165 cm, cuando su talla genética era 177 ± 5 cm. La talla final de su hermano gemelo SOR 54C y de su hermana mayor SOR 54A, también afectos de la enfermedad, fue desconocida.

c) Análisis de los factores relacionados con la talla baja a largo plazo en nuestra cohorte

Al igual que con el peso, se estudiaron los factores que podrían estar relacionados con el retraso de crecimiento a largo plazo en los pacientes de nuestra cohorte. Este análisis se realizó tanto con pacientes que eran adultos como los que eran pediátricos al final del estudio. En los casos que eran pediátricos, solamente se seleccionaron los pacientes que tenían un seguimiento de la enfermedad mayor de dos años. Por lo tanto, en total, se realizó el análisis con 43 pacientes de la cohorte y se dividieron los pacientes en dos grupos: **1)** Pacientes con talla patológica al final del estudio (*z-score* de talla ≤ -2 DE) y, **2)** Pacientes con talla normal al final del estudio (*z-score* de talla > -2 DE). En la Tabla 17 se muestran los resultados.

Al final del estudio, 12/43 (28%) pacientes tenían una talla patológica con un *z-score* igual o menor de -2 DE y 31/43 (72%) pacientes tenían una talla normal con un *z-score* mayor de -2 DE. Los pacientes con crecimiento patológico al final del estudio se diagnosticaron a los 0,6 (0,5-0,7) años de edad, y los pacientes con crecimiento normal a los 0,8 (0,3-2,3) años de edad, sin observar diferencias significativas entre ambos grupos. Así mismo, no observamos diferencias significativas en la media de la edad gestacional al nacimiento (37 ± 3 vs. 37 ± 2 semanas) ni en el porcentaje de pacientes que nacieron prematuros en cada grupo de pacientes (16% vs. 19%). Sin embargo, la mediana del tiempo de evolución fue mayor en los pacientes con talla normal al final del estudio [8 (5-12) años] que la de los pacientes con talla patológica [15 (5-26) años] ($p=0,04$).

Se analizó si existía alguna relación entre el retraso de crecimiento y la severidad de las alteraciones electrolíticas al diagnóstico. No hallamos diferencias significativas en la natremia (media 132 ± 5 vs. 133 ± 5 mEq/l), en el porcentaje de pacientes con hiponatremia (50% vs. 35%) e hipocloremia (58% vs. 61%) al diagnóstico entre ambos grupos. Sin embargo, en el grupo de pacientes con retraso de crecimiento, la kalemia media al

diagnóstico fue menor ($2,1 \pm 0,3$ vs. $2,7 \pm 0,6$ mEq/l; $p=0,04$) y la media del bicarbonato en plasma al diagnóstico fue mayor (38 ± 10 vs. 31 ± 4 mEq/l; $p=0,037$) en comparación con los pacientes con crecimiento normal a largo plazo.

Por otro lado, no se observó ninguna relación entre el retraso de crecimiento y el desarrollo de la enfermedad renal crónica. No se observaron diferencias significativas entre ambos grupos en la proporción de pacientes que desarrollaron enfermedad renal crónica (8% vs. 16%).

En resumen, con respecto a la talla, la mitad de los pacientes pediátricos presentaron una talla baja al diagnóstico y, a lo largo del seguimiento, dos tercios mejoraron la talla. Prácticamente la totalidad de los pacientes adultos de la cohorte presentaron una talla normal con respecto a la población general. La hipokalemia, los niveles altos de bicarbonato en plasma y el menor tiempo de seguimiento se asociaron con una talla baja a largo plazo.

Tabla 17. Análisis de los factores implicados en el crecimiento a largo plazo (n=43 pacientes)

	Al final del estudio				Valor P
	Talla patológica <i>z-score</i> ≤ -2 DE n= 12		Talla normal <i>z-score</i> > - 2 DE n=31		
	Valor	Nº Pacientes	Valor	Nº Pacientes	
Edad diagnóstico, años **	0,6 (0,5-0,7)		0,8 (0,3-2,3)	-	ns
Evolución, años **	8 (5-12)	-	15 (5-26)	-	0,04
Edad gestacional, semanas *	37 ± 3		37 ± 2		ns
Prematuridad (< 37 semanas)	-	2 (16%)	-	6 (19%)	ns
Electrolitos en plasma final del estudio:					
Natremia (mEq/l) * VN 135 - 145	132 ± 5		133 ± 5		ns
Hiponatremia (≤130 mEq/l)	-	6 (50%)	-	11 (35%)	ns
Cloremia (mEq/l) * VN 95-105 mEq/l	87 ± 5		88 ± 6		ns
Hipocloremia, ≤ 95 mEq/l	-	7 (58%)	-	19 (61%)	ns
Kalemia, (mEq/l) *	2,1 ± 0,3		2,7 ± 0,6		0,041
Bicarbonato (mEq/l) * VN: RNPT 16-18, RNT 16- 22, 0 y 2 años 18-22, 2-18 años 22- 24 y ≥ 18 años 24-26	38 ± 10		31 ± 4		0,037
Enfermedad renal crónica	-	1 (8%)	-	5 (16%)	ns

VN: valor normal. RN: Recién nacido. RNPT: recién nacido pretérmino

* Valor expresado en media ± DE

** Valor expresado en mediana (P25-75)

3.7. Función renal de la cohorte

En este apartado, se describen inicialmente los pacientes que presentaron una insuficiencia renal aguda al diagnóstico de la enfermedad. Por otro lado, se analiza si los pacientes de nuestra cohorte desarrollaron una enfermedad renal crónica (ERC), así como la edad en la que iniciaron el deterioro de la función renal. Así mismo, se describen las características principales de los pacientes con ERC. Finalmente, se analizan los posibles factores relacionados con el deterioro crónico de la función renal en nuestra cohorte.

3.7.1. Insuficiencia renal aguda al diagnóstico de la enfermedad

En cuanto a la insuficiencia renal aguda, 2 pacientes (SOR 8 y 186) presentaron un deterioro agudo de la función renal en contexto de deshidratación. El paciente SOR 8 fue diagnosticado a los 2 años de edad con un retraso ponderoestatural severo (*z-score* de peso -4,8 DE y de talla -3,1 DE) y una poliuria presentando un Filtrado Glomerular Estimado (FGE) de 44 ml/min/1,73m². El paciente SOR 186, fue diagnosticado a los 8 meses de edad en contexto de un retraso ponderoestatural (*z-score* de peso -2,3 DE y de talla -2,7 DE) con una creatinina de 0,6 mg/dl. En este último paciente, como se ha comentado anteriormente, se observó una hiperecogenicidad renal bilateral en la ecografía renal al final del estudio, a los 2,5 años de edad. En ambos pacientes que presentaron una insuficiencia renal aguda, la función renal se normalizó tras la rehidratación.

3.7.2. Desarrollo de enfermedad renal crónica en la cohorte

En nuestro estudio, tras una mediana de tiempo de evolución de 12,1 (6,4-26,4), 38/49 (88%) tenían una función renal normal (ERC grado I) y 11/49 (22%) pacientes presentaron deterioro crónico de la función renal. Entre estos últimos, 3/49 (6%) pacientes presentaban una ERC grado II (FGE 60-90 ml/min/1,73m²), 5/49 (10%) ERC grado III (FGE 30-60 ml/min/1,73m²), 2/49 (4%) pacientes ERC grado IV (15-30 ml/min/1,73m²) y, 1/49 (2%) paciente (SOR 51) se encontraba en un estadio V (FGE < 15 ml/min/1,73m²) en hemodiálisis crónica a los 48 años de edad. Los pacientes que desarrollaron enfermedad renal crónica en nuestra cohorte presentaron una mediana del ritmo de descenso del filtrado glomerular a lo largo de la evolución de 1,2 ml/min/1,73m²/año (0,7-2,3).

En la Tabla 18 se resumen las características principales de los pacientes con ERC. Entre los 11 pacientes con ERC, 9 eran mujeres y 2 eran hombres. La mediana de edad al diagnóstico de la enfermedad de los 11 pacientes que desarrollaron ERC fue 3,2 (0,5-17) años. Los pacientes SOR 3, SOR 5 y SOR 9 presentaron un fenotipo antenatal con polihidramnios durante el embarazo, y se diagnosticaron de Síndrome de Bartter a los 6 años, a los 3 años y a los 2 años de edad, respectivamente. Además, dos de ellos (SOR 3 y SOR 9) nacieron prematuramente a las 36 semanas de gestación. Por otro lado, 6 pacientes (SOR 54A, SOR 54C, SOR 115, SOR 123, SOR 197) presentaron un fenotipo clínico de Síndrome de Bartter clásico diagnosticándose entre los 3,5 meses y los 17 años. Por último, los pacientes SOR 51 y SOR 100 presentaron un fenotipo clínico de Síndrome de Gitelman y se diagnosticaron a los 25 y 26 años de edad, respectivamente.

Entre los 11 pacientes que presentaron ERC en nuestra cohorte, 7/11 (63%) pacientes presentaban un deterioro crónico de la enfermedad desde el momento del diagnóstico (SOR 3, SOR 9, SOR 51, SOR 80, SOR 100, SOR 115 y SOR 197). Por otro lado, los otros 4/11 (37%) pacientes con ERC (SOR 5, SOR 54A, SOR 54C, SOR 123), tenían una función renal normal al diagnóstico, sin embargo, presentaron un deterioro crónico de la función renal a lo largo de la evolución diagnosticándose de una ERC tras un tiempo de evolución entre 7 y 31 años. Los pacientes SOR54A y SOR 54C pertenecen a la misma familia (SOR 54). Las familias en los que existe más de un miembro con Síndrome de Bartter Tipo III se describen en el apartado 3.10.

Tabla 18. Características clínicas de los pacientes con enfermedad renal crónica (n=11 pacientes)

Paciente	Fenotipo clínico	EG/PH	Edad Diagn.	Edad inicio ERC	Edad final	FGE Diagn.	FGE final	Proteinuria	Ecografía renal	Otras características	Variante <i>CLCNKB</i>
SOR 3	Antenatal	36/si	6	6	34	85 (II)	37 (III)	Si	Hiperecogenicidad, desdiferenciación corticomedular bilateral. Quiste polo inferior RI	S. Fanconi secundario	p.Ala204Thr hom
SOR 5	Antenatal	40/si	3	24	32	100	59 (III)	No	Nefrocal., litiasis coraliforme bilat	LEOC (2 sesiones) Obstrucción vía urinaria	p.Ala204Thr hom
SOR 9	Antenatal	36/si	2	2	48	80 (II)	44 (III)	Si	ND	-	p.Ala204Thr hom
SOR 51	Gitelman	ND/ND	25	25	48	32 (IV)	12 (V)*	Si	Litiasis unilateral	PCR al diagn. obesidad, pancreatitis por etilismo, dislipemia. Mal cumplimiento del tto	p.Ala204Thr hom
SOR 54A	Clásico	42/no	0,5	31.5	36	100	67 (II)	No	ND	-	p.Ala204Thr p.Glu442Gly
SOR 54C	Clásico	38/no	0,3	23	26	98	69 (II)	No	ND	-	p.Ala204Thr p.Glu442Gly
SOR 80	Clásico	40/no	6	6	20	60 (II)	35 (III)	Si	Nefrocalcinosis	-	p.Arg595* hom
SOR 100	Gitelman	ND/ND	26	26	61	47 (III)	26 (IV)	Si	Nefrocalcinosis	-	p.Ala204Thr hom
SOR 115	Clásico	39/no	17	17	53	76 (II)	52 (III)	No	Normal	-	p.Ala204Thr hom
SOR 123	Clásico	37/no	0,3	10	12	Cr 0,3	59 (III)	No	Normal	-	p.Ala204Thr hom
SOR 197	Cásico	38/no	1,6	1,6	5	72 (II)	70 (II)	No	Normal	-	p.Ala204Thr hom

EG: edad gestacional (semanas). **PH:** polihidramnios durante el embarazo (si/no). **Edad diagn:** edad a la que se diagnostica la enfermedad en años. **Edad inicio ERC:** edad de inicio de la enfermedad renal crónica expresado en años. En negrita se expresan los pacientes que tenían ERC al diagnóstico. **Edad final:** Edad al final del estudio en años. **FGE Diagn:** filtrado glomerular estimado al diagnóstico en ml/min/1,73m² (entre paréntesis se muestra el grado de ERC). En los niños menores de un año se muestra el valor de la creatinina en mg/dl. **FGE final:** filtrado glomerular estimado al final del estudio en ml/min/1,73m². En los pacientes menores de 1 año se muestra el valor de la creatinina en mg/dl. **Ecografía renal:** alteraciones ecográficas a lo largo de la evolución. **Nefrocal:** nefrocalcinosis. **Bilat:** bilateral **LEOC:** litotricia extracorpórea **ND:** No determinado. **RI:** Riñón izquierdo. **PCR:** parada cardiorrespiratoria. **Tto:** tratamiento. **Hom:** homocigosis. * Paciente en hemodiálisis

En 5 de los 11 (45%) pacientes con enfermedad renal crónica de nuestra cohorte se observaron alteraciones en la ecografía renal: tres pacientes (SOR 5, SOR 80 y SOR 100) presentaron una nefrocalcinosis bilateral, dos pacientes presentaron litiasis (SOR 5 y SOR 51), y un paciente (SOR 3) presentó una hiperecogenicidad con desdiferenciación corticomedular bilateral desde el diagnóstico de la enfermedad, así como un quiste simple renal unilateral al final del estudio. No se observaron otras malformaciones renales en ningún otro paciente.

Por otro lado, 5 de los 11 pacientes con ERC (45%) en nuestra cohorte asociaban una proteinuria glomerular, todos ellos se encontraban en una situación de ERC grado III o mayor ($FGE < 45 \text{ ml/min/1,73m}^2$). En todos estos pacientes, la proteinuria estuvo por debajo del rango nefrótico (índice de proteínas/creatinina $< 2 \text{ mg/mg}$). Un paciente (SOR 3) presentó una proteinuria mixta (glomerular y tubular) y con el tiempo presentó una proteinuria de predominio glomerular (ver descripción de este paciente más abajo).

Entre todos los pacientes con ERC de la cohorte, la paciente SOR 3, a pesar de haber tenido una historia de polihidramnios durante el embarazo y haber nacido prematura de 36 semanas, fue diagnosticada clínicamente a los 6 años de edad. En el momento diagnóstico presentaba un retraso de crecimiento con poliuria y polidipsia, una hipopotasemia de $1,4 \text{ mEq/l}$ y enfermedad renal crónica ($FGE 85 \text{ ml/min/1,73m}^2$). Además, asociaba un Síndrome de Fanconi secundario con hipofosforemia de 3 mg/dl (valor normal $3,8\text{-}6,8 \text{ mg/dl}$) con hiperfosfaturia (tasa de reabsorción de fósforo de 57% , valor normal $85\text{-}95\%$), glucosuria, ácido úrico bajo en plasma de $2,5 \text{ mg/dl}$ (valor normal $3,5\text{-}7 \text{ mg/dl}$) con una excreción fraccionada de ácido úrico en orina de 36% (valor normal $7,6 \pm 0,6\%$), una aminoaciduria generalizada y una proteinuria mixta ($10 \text{ mg/m}^2/\text{hora}$) con una beta-2 microglobulina en orina de 1000 mcg/l (valor normal $< 170 \text{ mcg/l}$). El valor de la microalbuminuria al diagnóstico fue desconocido. Así mismo, presentó cifras de magnesio en plasma particularmente bajas ($0,9 \text{ mg/dl}$) con una excreción de magnesio en orina elevada además de una calcemia en límite alto de la normalidad de $10,5 \text{ mg/dl}$ (valor normal $8,5\text{-}10,5 \text{ mg/dl}$), una calciuria elevada de 11 mg/kg/día (valor normal $< 4 \text{ mg/kg/día}$), y ausencia de citrato en orina 0 mg/kg/día (valor normal $11,43 \pm 7,74 \text{ mg/Kg/24 h}$). No obtuvimos valores de la parathormona. En la ecografía renal se observaron riñones hiperecogénicos con desdiferenciación corticomedular y estos hallazgos se mantuvieron a lo largo de la evolución de la enfermedad. Además, al final del estudio, en la ecografía presentaba un quiste simple de 4 mm en polo inferior del riñón izquierdo. Todas las alteraciones

bioquímicas halladas al diagnóstico se corrigieron tras iniciar el tratamiento, persistiendo la alcalosis metabólica y la hipokalemia. La calciuria se normalizó y no desarrolló nefrocalcinosis. Al final del estudio, a los 34 años de edad presentaba un FGE de 37 ml/min/1,73m² y una proteinuria de predominio glomerular (índice de proteínas/creatinina de 0,4 mg/mg). En esta paciente se realizó una biopsia renal que mostró 8 glomérulos, la mayoría de ellos atróficos, pequeños y en vías de esclerosis. Así mismo, se observó una marcada fibrosis intersticial a nivel cortical con atrofia parenquimatosa muy acusada. A nivel yuxtaglomerular se describió la presencia de marcada fibrosis con desaparición glomerular ostensible. En la microscopía electrónica presentó una marcada fibrosis intersticial con hiperplasia yuxtaglomerular.

Por otro lado, el paciente SOR 5, a pesar de presentar un fenotipo antenatal, se diagnosticó clínicamente a los 3 años de edad en contexto de fallo de medro y poliuria. Además de los signos clínicos y bioquímicos típicos de los pacientes de Síndrome de Bartter Tipo III (kalemia 2 mEq/l, cloremia 85 mEq/l, bicarbonato en plasma 28 mEq/l) y una nefrocalcinosis desde el momento del diagnóstico, presentó una litiasis coraliforme bilateral en la infancia en contexto de infecciones de orina de repetición por *Escherichia Coli* y *Proteus mirabilis*. Preciso dos sesiones de litotricia extracorpórea. A los 30 años de edad presentó un episodio de obstrucción de la vía urinaria por litiasis bilaterales con colocación de una nefrostomía en un lado y un catéter doble J en el otro lado. Si bien al diagnóstico presentaba una función renal normal (FGE 100 ml/min/1,73m²), al final del estudio tenía una enfermedad renal crónica grado II (FGE 60 ml/min/1,73m²) a los 32 años de edad. Esta paciente también se ha mencionado en el apartado 3.5. donde se describen los pacientes con nefrocalcinosis y litiasis.

Por otro lado, el paciente SOR 51 se diagnosticó a los 25 años de edad en contexto de una parada cardiorrespiratoria además de una rabdomiolisis severa. Presentó un fenotipo Gitelman con una hipopotasemia grave (0,7 mEq/l) y una hipomagnesemia (1,4 mEq/l) con normocalciuria. Presentó una enfermedad renal crónica estadio III (FGE 32 ml/min/1,73m²) al diagnóstico, además de una proteinuria glomerular (índice de proteínas/creatinina 1,1 mg/mg). Al final del estudio, presentaba una obesidad con un índice de masa corporal de 34 kg/m², además de una pancreatitis crónica secundaria a un etilismo crónico, una dislipemia crónica y una broncopatía crónica. Presentó mala adherencia terapéutica con múltiples ingresos por hipopotasemia a lo largo de la evolución, y al final del estudio, a los 48 años de edad, se encontraba en hemodiálisis crónica.

En cuanto a las características moleculares en el gen *CLCNKB* de los pacientes con ERC de nuestra cohorte: **a)** En 8/11 (72%) pacientes la variante p.Ala204Thr en homocigosis, **b)** En 2/11 (20%) pacientes (SOR 54A y SOR 54C) la variante p.Ala204Thr en heterocigosis con la variante *missense* p.Glu442Gly, **yc)** En 1/11 (8%) paciente (SOR 80) la variante *nonsense* p.Arg595* en homocigosis.

3.7.3. Análisis de los factores relacionados con el desarrollo de enfermedad renal crónica a largo plazo

Se estudiaron los posibles factores que podrían estar relacionados con el desarrollo de la enfermedad renal crónica (ERC) a largo plazo en nuestra cohorte. Para ello, se dividieron los pacientes en dos grupos: **1)** Pacientes que desarrollaron ERC durante la evolución con un filtrado glomerular estimado menor de 90 ml/min/1,72m² (n=11 pacientes) **2)** Pacientes que mantuvieron una función renal normal durante la evolución con un filtrado glomerular igual o mayor de 90 ml/min/1,72m² (n=38 pacientes). En la Tabla 19 se muestran los resultados.

Por un lado, la edad al diagnóstico de los pacientes con ERC fue significativamente mayor que la de los pacientes con función renal normal [3,2 (0,5-17) vs. 0,6 (0,4-2) años; p= 0,038] (Figura 23). Además, hallamos una relación significativa entre el año de diagnóstico y el desarrollo de ERC: el 90% de los pacientes que mantuvieron una función renal normal a largo plazo fueron diagnósticos posteriores al año 2000, mientras que, en el grupo de pacientes con ERC solamente el 40% fueron diagnosticados a partir de ese año (p= 0,014). Por otro lado, los pacientes con ERC presentaron un tiempo de evolución de la enfermedad mayor que los pacientes con función renal normal [30 (20-48) vs. 9,5 (5-19); p=0,003].

Tabla 19. Análisis de los factores implicados en el desarrollo de la enfermedad renal crónica a largo plazo (n=49 pacientes)

	Enfermedad renal crónica n=11		Función renal normal n=38		Valor p
	Valor	Nº Pacientes	Valor	Nº Pacientes	
Edad diagnóstica, años **	3,2 (0,5-17)	-	0,6 (0,4-2)	-	0,038
Año de diagnóstico					
Año < 2000		8 (60%)		11 (10%)	0,014
Año ≥ 2000		3 (40%)		27 (90%)	
Tiempo de evolución, años **	30 (20-48)	-	9,5 (5-19)	-	0,003
Edad gestacional, semanas *	38 ± 2		38 ± 2		ns
Prematuridad, <37 semanas	-	2 (22%)	-	6 (16%)	ns
Electrolitos en plasma al diagnóstico					
Kalemia (mEq/l) * VN 3,5-4,5	2 ± 0,5		2,5 ± 0,4		0,041
Bicarbonato (mEq/l) * VN: RNPT 16-18, RNT 16- 22, 0 y 2 años 18-22, 2-18 años 22- 24 y ≥ 18 años 24-26	34 ± 2		30 ± 3		0,004
Dosis Indometacina, (mg/kg/día) **	2 (1,4-2,5)	-	1,2 (0,2-1,7)	-	0,022
Nefrocalcinosis	-	3 (27%)	-	4 (10%)	ns
Descompensaciones agudas	-	3 (27%)	-	10 (26%)	ns

VN: valor normal

* Valor expresado en media ± desviación estándar

** Valor expresado en mediana (P25-75)

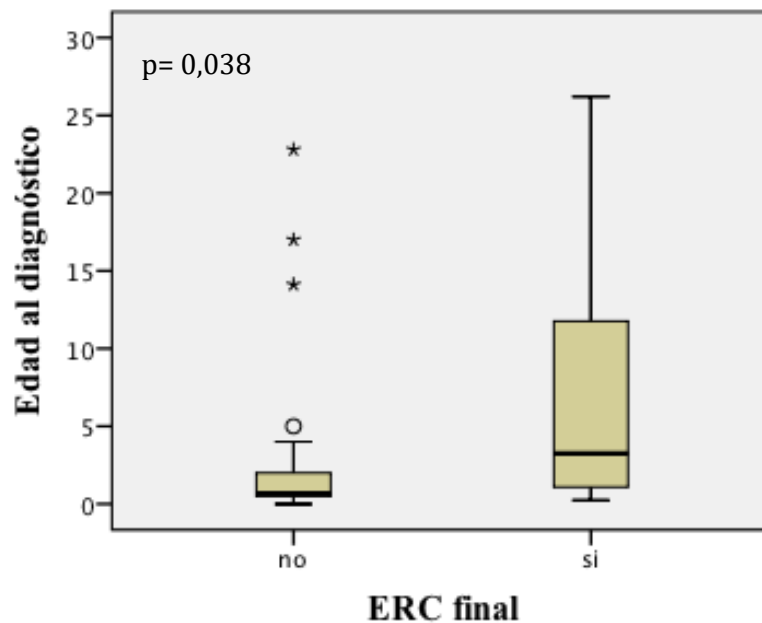


Fig. 23. Relación entre la edad al diagnóstico y el desarrollo de enfermedad renal crónica representado mediante diagrama de cajas.

En el eje horizontal se muestran dos grupos de pacientes: 1) Pacientes con función renal normal al final del estudio (n=38) 2) Pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) al final del estudio (n=11). En el eje vertical se muestra la edad en años. Los pacientes con ERC se diagnosticaron más tarde que los pacientes con función renal normal a largo plazo ($p= 0,038$) ° Valor más alejado del P75, que se sitúan a más de 1,5 veces de la longitud de la caja (rango intercuartílico P75-P25). * Valor más alejado del P75, a más de 3 veces de la longitud de la caja (rango intercuartílico P75-25).

En cuanto a los datos perinatales, no se observaron diferencias significativas en la media de edad gestacional al nacimiento entre ambos grupos (38 ± 2 vs. 38 ± 2 semanas) ni en el porcentaje de pacientes que nacieron prematuros (22% vs. 16%).

En relación a las alteraciones hidroelectrolíticas, la media de la kalemia al diagnóstico en los pacientes que desarrollaron una enfermedad renal crónica fue significativamente menor ($2 \pm 0,5$ mEq/) que la de los pacientes con función renal normal ($2,5 \pm 0,4$ mEq/) ($p=0,041$). Así mismo, la media del bicarbonato en plasma al diagnóstico entre los pacientes con deterioro crónico de la función renal (34 ± 2 mEq/l) fue mayor que la de los pacientes con función renal normal (30 ± 3 mEq/l) ($p=0,004$).

Por otra parte, la media de dosis de indometacina que recibían los pacientes con desarrollo de ERC a largo plazo era significativamente mayor de que la de los pacientes con función renal conservada [2 (1,4-2,5) vs. 1,2 (0,2-1,7) mg/kg/día; $p=0,022$]. Finalmente, no se hallaron diferencias significativas entre ambos grupos en el porcentaje de pacientes que presentaron nefrocalcinosis (27% vs. 10%) y descompensaciones agudas (27% vs. 26%).

En resumen, el 22% de nuestra cohorte presentó un deterioro crónico de la función renal. Entre ellos, el 37% presentaba una nefrocalcinosis en la ecografía renal y el 72% presentaba la variante p.Ala204Thr en homocigosis. La edad, la severidad de la hipokalemia y de la alcalosis metabólica al diagnóstico y el tiempo de evolución de la enfermedad fueron factores relacionados con el desarrollo de la enfermedad renal crónica en nuestra cohorte.

En resumen, en relación a la función renal, la insuficiencia renal aguda asociada a la deshidratación al diagnóstico de la enfermedad fue poco frecuente. A lo largo de la evolución, un cuarto de los pacientes desarrollaron enfermedad renal crónica. Una edad mayor al diagnóstico, o un diagnóstico antes del año 2000, y un tiempo de evolución mayor, fueron factores relacionados con el deterioro crónico de la función renal. Así mismo, la hipokalemia y los niveles altos de bicarbonato en plasma al diagnóstico de la enfermedad, así como una dosis mayor de indometacina se relacionaron con la enfermedad renal crónica.

3.8. Tratamiento al diagnóstico y al final del estudio

En este apartado se describe y se compara el tratamiento que recibían los pacientes de nuestra cohorte al diagnóstico y al final del estudio. El tratamiento que recibieron los pacientes en relación con los suplementos de cloruro sódico, potasio y magnesio se han descrito en el apartado 3.4.1. Sin embargo, aquí se describe el tratamiento de los pacientes con inhibidores de la prostaglandina E2, con protectores gástricos, y con ahorradores de potasio o con inhibidores de la aldosterona (eplerrenona, espironolactona) (Tabla 20). En el Anexo 12 se detalla el tratamiento que recibía cada paciente de la cohorte al diagnóstico de la enfermedad y al final del estudio.

Tabla 20. Tratamiento al diagnóstico y al final del estudio (n=49 pacientes)

	Al diagnóstico		Al final del estudio		Valor p
	Valor	Nº Pacientes	Valor	Nº Pacientes	
AINES	-	46 (94%)	-	44 (88%)	ns
Indometacina, mg/kg/día *	1,7 ± 0,7	41 (89%)	1,7 ± 0,9	40 (91%)	ns
Ibuprofeno, mg/kg/día **	27 (14-30)	4 (9%)	18 (10-29)	3 (7%)	ns
Tolmetina	-	1 (2%)	-	1 (2%)	ns
Protector gástrico	-	27 (55 %)	-	29 (59%)	ns
Ahorradores de potasio		13 (27%)		24 (49%)	
Espironolactona	-	13 (27%)	-	19 (39%)	0,028
Eplerrenona	-	0 (0%)	-	5 (10%)	0,021
IECAs	-	2 (4%)	-	7 (14%)	0,033

* Valor de la media ± DE

** Valor de la mediana (P25-75)

AINES: antiinflamatorios no esteroideos.

IECAs: inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina.

En cuanto al tratamiento con antiinflamatorios no esteroideos (AINES), en ningún caso con polihidramnios durante el embarazo se administraron AINES a la madre. Entre los 49 pacientes de la cohorte, en 46/49 (94%) pacientes se prescribió un AINES no selectivo de la enzima ciclooxigenasa al diagnóstico de la enfermedad: 41/46 (91%) pacientes recibieron indometacina, 4/49 (6%) pacientes recibieron ibuprofeno y 1/46 (3%) tolmetina. La media de la dosis de indometacina que recibieron fue $1,7 \pm 0,7$ mg/kg/día, y la media de la dosis de ibuprofeno fue $24 \pm 9,5$ mg/kg/día. En tres pacientes no se prescribieron AINES al diagnóstico, ni tampoco se introdujo ningún AINE a lo largo de la evolución de la enfermedad. Entre ellos, el paciente SOR 51, comentado previamente, presentó una parada cardiorrespiratoria al diagnóstico a los 25 años de edad y tenía una enfermedad renal crónica grado III. El segundo paciente que no recibió AINES al diagnóstico fue SOR 105, diagnosticado en el año 1983 a los 5 años de edad en contexto de un fallo de medro con un fenotipo clásico, un *z-score* de talla de

-1,9 DE con un potasio en plasma de 2,9 mEq/l, un bicarbonato 32 mEq/l y un cloro 91 mEq/l. Su función renal a largo plazo fue normal. El tercer paciente fue SOR 100, se diagnosticó clínicamente en el año 1984 de Síndrome de Bartter a los 26 años de edad en contexto de poliuria y debilidad con un fenotipo clínico clásico con un potasio 3,2 mEq/l, un bicarbonato de 26 mEq/l y un cloro de 87 mEq/l, respectivamente. Los datos de peso y talla en este paciente no estuvieron disponibles, y su función renal a largo plazo fue normal.

Respecto a los efectos secundarios de los AINEs, 7/46 (15%) pacientes que recibían AINEs al diagnóstico refirieron síntomas gastrointestinales a lo largo de la evolución: dolor gástrico en cinco pacientes y epigastralgia en dos pacientes. Uno de estos pacientes presentó úlceras gástricas de repetición y otro una gastropatía crónica visualizada por endoscopia requiriendo en ambos la suspensión de la indometacina (pacientes SOR 3 y SOR 23). Ambos pacientes no recibían protector gástrico al diagnóstico de la enfermedad y se prescribió omeprazol tras el desarrollo de las complicaciones gástricas.

Al final del estudio, 44/49 (88%) pacientes recibían AINEs no selectivos de la enzima ciclooxigenasa. Como se ha comentado en el párrafo anterior, en dos pacientes se suspendió el AINEs por úlceras gástricas y gastropatía crónica. Además, en un paciente se suspendió el ibuprofeno temporalmente por presentar una púrpura trombocitopénica idiopática y meses después se introdujo la indometacina. Entre los 44 pacientes que recibían AINEs, 40/44 (93%) recibían indometacina con una media de dosis de $1,7 \pm 0,9$ mg/kg/día, entre ellos y ningún paciente, salvo uno (SOR 129), superaba la dosis de 3 mg/kg/día. El paciente SOR 129 recibía una dosis de 4,5 mg/kg/día. Por otro lado, 3/44 (7%) pacientes recibían ibuprofeno con una mediana de dosis de 18 (10-29) mg/kg/día, y 2/44 (2%) paciente recibía tolmetina (la dosis que recibía fue desconocida). La dosis de indometacina y de ibuprofeno que recibían los pacientes al final del estudio no varió significativamente respecto a la dosis inicial.

Así mismo, en toda la cohorte, 27/49 (55%) pacientes recibían un protector gástrico (omeprazol) asociado al AINEs al diagnóstico de la enfermedad. Al final del estudio, 29/49 (59%) pacientes de la cohorte recibían un protector gástrico. Entre estos últimos, 27 pacientes asociaban un AINEs en el tratamiento.

En cuanto al tratamiento con inhibidores de la aldosterona o ahorradores de potasio, al diagnóstico de la enfermedad, 13/49 (27%) pacientes recibían espironolactona. Entre ellos, un paciente (SOR 80) se encontraba en situación de enfermedad renal crónica al diagnóstico de la enfermedad con un filtrado glomerular estimado de 60 ml/min/1,73m². En este paciente se suspendió la espironolactona a lo largo de la evolución. El resto de pacientes en los que se prescribió espironolactona al diagnóstico de la enfermedad, tenían una función renal normal. Sin embargo, al final del estudio, el porcentaje de pacientes que recibían espironolactona aumentó significativamente con respecto al diagnóstico (19/49 pacientes; 39%) (p=0,028). Además, 5/49 (10%) pacientes de la cohorte recibían eplerrenona al final del estudio. Entre los pacientes que recibían eplerrenona o espironolactona (en total 24 pacientes de la cohorte), cinco pacientes se encontraban en situación de enfermedad renal crónica (SOR 5, SOR 9, SOR 54A, SOR 54C y SOR 123).

Así mismo, el número de pacientes que recibían IECAs al final del estudio también aumentó significativamente con respecto al diagnóstico (p=0,033). Al diagnóstico de la enfermedad, 2/49 (4%) pacientes recibían inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECAs) (SOR 54C y SOR 104A). La paciente SOR 54C tenía 4 meses de edad y la paciente SOR 104A dos meses de edad. La función renal en ambas era normal y no presentaban proteinuria al diagnóstico de la enfermedad. En la paciente SOR 104A los IECAs se suspendieron a los 3 años del diagnóstico. Al final del estudio, 7/49 (14%) pacientes recibían IECAs: 1/7 paciente (SOR 9) presentaba un deterioro crónico de la función renal con un filtrado glomerular de 44 ml/min/1,73m² y proteinuria; 2/7 pacientes se encontraban en situación de enfermedad renal crónica sin proteinuria (SOR 54A y SOR 54C) con filtrado glomerular estimado de alrededor de 70 ml/min/1,73m²; y 4/7 tenían una función renal normal sin proteinuria (SOR 195, SOR 97, SOR 24A, SOR 54B).

En resumen, en relación al tratamiento, prácticamente la totalidad de los pacientes recibieron AINEs no selectivos de la enzima ciclooxigenasa, y la mitad de los pacientes asociaban un protector gástrico. Los efectos secundarios gastrointestinales asociados a los AINEs fueron poco frecuentes. Por otro lado, el número de pacientes que recibían inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina e inhibidores de la aldosterona aumentó significativamente a lo largo de la evolución de la enfermedad.

3.9. Comparación de las características clínicas según el fenotipo clínico de presentación

En nuestra cohorte, 26/49 (53%) pacientes presentaron un fenotipo clínico de Síndrome de Bartter Clásico, 17/49 (35%) un fenotipo clínico similar al Síndrome de Bartter Antenatal o Neonatal y 6/49 (12%) un fenotipo clínico similar al Síndrome de Gitelman. En este apartado se describen y se comparan las características clínicas al diagnóstico y a largo plazo de nuestra cohorte entre los tres fenotipos clínicos que presentaron (Tabla 21).

La edad al diagnóstico de la enfermedad fue diferente en los tres grupos de fenotipo clínico ($p=0,006$). La mediana de edad al diagnóstico clínico de los pacientes con fenotipo Gitelman fue mayor [17 (2-23) años], en comparación con la edad de los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal [0,6 (0,1-1,4) años] y en comparación con la edad de los pacientes con fenotipo Síndrome de Bartter Clásico [0,6 (0,5-3) años] ($p<0,005$). Sin embargo, la diferencia de la edad al diagnóstico entre los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal y los pacientes con fenotipo clásico no fue significativa.

Entre los 17 pacientes con fenotipo clínico de presentación antenatal o neonatal la cohorte, solamente 4 pacientes (SOR 103, SOR 104, SOR 114, SOR 137) se diagnosticaron en periodo neonatal (dos de ellos presentaron polihidramnios). Por otro lado, 9 de 17 pacientes con fenotipo antenatal, a pesar de presentar polihidramnios durante el embarazo, se diagnosticaron entre el primer mes y el primer año de vida. Por último, los cuatro pacientes restantes con fenotipo antenatal al diagnóstico (SOR 3, SOR 5, SOR 9 y SOR 48), a pesar de presentar polihidramnios durante el embarazo, se diagnosticaron clínicamente entre los 2 y los 6 años.

Tabla 21. Características clínicas según el fenotipo clínico de presentación (n=49 pacientes)

	Fenotipo clínico			Valor p			
	SBAN n=17 (35%)	SBC n=26 (53%)	GL n=6 (12%)	Todos	SBAN vs. SBC	SBAN vs. GL	SBC vs. GL
Edad diagn., años **	0,6 (0,1-1,4)	0,6 (0,5-3)	17 (2-23)	0,006	ns	0,002	0,007
Año de diagnóstico < 2000 ***	3 (17 %)	9 (35%)	6 (100%)	0,003	-	-	-
Peso recién nacido, gramos *	2719 ± 620	3242 ± 637	3412 ± 575	0,018	0,009	0,008	ns
Polihidramnios ***	15 (88%)	0	0	-			
Prematuridad *** (< 37 semanas)	8 (47%)	0	0	-	-	-	-
Peso diagnóstico, z-score **	-2,3 (-3,3 – -1,3)	-2 (-3,4 – -1,5)	-1,9 (-3,9 – -0,2)	ns	-	-	-
Talla diagnóstico**, z-score	-1,7 (-3,8 – -0,5)	-2,1 (-3,5 – -1,1)	-2 (-2,5 – -1,5)	ns	-	-	-
Peso final**, z-score	-1 (-1,9 – -0,4)	- 1,5 (-2 – -0,7)	- 0,1 (-0,8 – 2,3)	ns	-	-	-
Talla final**, z-score en DE	-1 (-2,4 – -0,4)	-1,5 (- 2,3 – -0,9)	-0,2 (-0,9 – 0,8)	0,031	ns	0,012	0,010
Alt. electrolíticas plasma al diagnóstico:							
Potasio, mEq/l *, VN > 3,5-4,5	2,5 ± 0,5	2,5 ±0,6	2 ± 0,6	ns	-	-	-
Sodio, mEq/l *, VN 135-145	133 ± 5	133 ± 5	134±3	ns	-	-	-
Hiponatremia ***, < 135 mEq/l	6/17 (35%)	11/26 (42%)	2/6 (33%)	ns			
Cloro, mEq/l*, VN > 95-105	87 ± 5	88 ± 6	92 ± 4	ns	-	-	-
Hipocloremia ***, ≤ 95 mEq/l	12 (70%)	22 (85%)	3 (50%)	ns			
Bicarbonato, mEq/l * VN: RNPT 16-18, RNT 16- 22, 0 y 2 años > 18-22, 2-18 años 22-24 y ≥ 18 años 24-26	32±7	32±7	30±4	ns	-	-	-
Calcio, mg/dl * VN: RN 7,6-10,5; niños/adultos 8,5-10	9,9 ±0,5	9,9 ± 1,3	9,9 ± 0,5	ns	-	-	-

Tabla 21. Características clínicas según el fenotipo clínico de presentación (n=49 pacientes) (continuación)

	Fenotipo clínico de presentación			Valor p			
	SBAN n=17 (35%)	SBC n=26 (53%)	GL n=6 (12%)	Todos	SBAN vs. SBC	SBAN vs. GL	SBC vs. GL
Magnesio, mg/dl * VN: RN 1,2-2,2; niños/adultos < 1,6-2,5	2,1 ± 0,5	2,1 ± 0,4	1,6 ± 0,3	0,018	ns	ns	0,006
Alt. electrolíticas orina diagnóstico:							
Excreción fraccional de sodio (EFNa) ** VN < 1% en recién nacidos a término, niños y adultos, y < 5% en RN pretérminos	1 (0,3-2)	0,9 (0,2-1,5)	1,2 (1-1,5)	ns	-	-	-
Valores anormales de EFNa, por encima del VN ***	12 (71%)	15 (58%)	3 (50%)	ns	-	-	-
Excreción fraccional de potasio (EFK) ** VN 10-15%	23 (14-47)	27 (20-50)	30 (24-34)	ns	-	-	-
Valores anormales de EFK, por encima del VN ***	15 (88%)	20 (77%)	4 (66%)	ns	-	-	-
Excreción fraccional de cloro (EFCl) ** VN <1%	1,6 (0,3-2,7)	1,5 (0,35-1,7)	2 (0,2-2,2)	ns	-	-	-
Valores anormales de EFCl, por encima del VN ***	17 (100%)	8 (31%)	0 (0%)	ns	-	-	-
Hiper calciuria diagnóstico ***	5 (29%)	8 (31%)	1 (10%)	ns	-	-	-
Signos clínicos diagnóstico ***							
Retraso crecimiento	13 (76%)	19 (74%)	4 (66%)	ns	-	-	-
Hipotonía	13 (76%)	15 (57%)	1 (16%)	0,041	-	-	-
Deshidratación	12 (70%)	15 (57%)	1 (16%)	ns			
Poliuria	13 (76%)	17 (65%)	3 (50%)	ns	-	-	-
Polidipsia	8 (47%)	20 (77%)	3 (50%)	ns			
Estreñimiento	6 (35%)	9 (34%)	0 (0%)	ns	-	-	-
Calambre/Astenia/Debilidad muscular/Palpitaciones	0 (0%)	2 (8%)	3 (50%)	0,008	ns	ns	0,006
Fortuito	0 (0%)	1 (4%)	1 (16%)	ns	-	-	-

Tabla 21. Características clínicas según el fenotipo clínico de presentación (n=49 pacientes) (continuación)

	Fenotipo clínico de presentación			Valor p			
	SBAN n=17 (35%)	SBC n=26 (53%)	GL n=6 (12%)	Todos	SBAN vs. SBC	SBAN vs. GL	SBC vs. GL
Nfrocalcinosis ***	4 (24%)	3 (11%)	0 (0%)	ns	-	-	-
Enfermedad renal crónica ***	3 (17%)	6 (23%)	2 (66%)	ns	-	-	-

Fenotipos clínicos de presentación: SBAN (similar al Síndrome de Bartter Antenatal/Neonatal), SBC (Síndrome de Bartter Clásico) y GL (Síndrome de Gitelman).

* Valor expresado en media \pm DE (desviación estándar)

** Valor expresado en mediana (P25-75)

*** Valor expresado en número de pacientes (%) en cada grupo de fenotipo clínico de presentación

Columna p-valor: comparación entre los tres grupos de fenotipo (todos) y, en los casos en los que fue estadísticamente posible, la comparación de cada grupo con el resto de grupos por separado (SBAN vs. SBC, SBAN vs. GL, SBC vs. GL). VN: valor normal. RN: recién nacido. RNPT: recién nacido pretérmino

Entre los 26 pacientes con fenotipo clínico clásico, todos los pacientes salvo uno (SOR 100) se diagnosticaron entre un mes y 14 años de edad. El paciente SOR 100, aunque los datos perinatales fueron desconocidos, fue diagnosticado en el año 1984 a los 26 años de edad sin hipocalciuria ni hipomagnesemia, y, además, presentaba una enfermedad renal crónica. Finalmente, entre los 6 pacientes con fenotipo similar al Síndrome de Gitelman, dos pacientes, SOR 24B y SOR 25, tenían un año y 2,5 años de edad al diagnóstico, respectivamente. El resto de pacientes con fenotipo Gitelman tenían entre 17 y 25 años de edad al diagnóstico de la enfermedad.

Por otro lado, hallamos una relación significativa entre el año del diagnóstico y el fenotipo clínico de presentación. El 17% de los pacientes con fenotipo antenatal/neonatal, el 35% de los pacientes con fenotipo Clásico y todos los pacientes con fenotipo Gitelman fueron diagnosticados antes del año 2000, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p=0,003$). Todos los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal, salvo tres, fueron diagnósticos posteriores al año 2000. Los tres pacientes con fenotipo antenatal que se diagnosticaron previamente al año 2000 fueron SOR 3 (año 1990), SOR 5 (año 1989) y SOR 9 (año 1972) que, como se ha comentado en el párrafo anterior, están entre los cuatro pacientes que se diagnosticaron tardíamente a pesar de presentar polihidramnios. Entre los pacientes con fenotipo clásico, el 35% fueron diagnósticos previos al año 2000, concretamente entre los años 1977 y 1999. Por último, los seis pacientes con fenotipo clínico Gitelman fueron diagnósticos previos al año 2000, concretamente entre el año 1982 y 1997.

Por otro lado, el peso de recién nacido fue diferente en los tres grupos fenotípicos ($p=0,018$). Los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal presentaron un peso medio de recién nacido menor (2719 ± 620 gr) que los pacientes con fenotipo clásico (3242 ± 637 gr) y que los pacientes con fenotipo Gitelman (3412 ± 575 gr) ($p<0,005$). Así mismo, todos los pacientes que nacieron prematuramente en nuestra cohorte presentaron un fenotipo clínico antenatal o neonatal.

Entre los datos antropométricos de los pacientes al diagnóstico, no existieron diferencias significativas en el peso y la talla al diagnóstico entre los tres grupos de fenotipo clínico. Al final del estudio, en los tres grupos se observó una mejoría del peso al final del estudio sin hallar diferencias significativas en el peso al final del estudio. La talla también mejoró en los

tres grupos a lo largo de la evolución, observando diferencias significativas en la talla final entre los tres grupos de fenotipo clínico ($p=0,031$). Concretamente, los pacientes con fenotipo Gitelman presentaron una mediana de talla mayor al final del estudio [z -score -0,2 (-0,9 – 0,8) DE] que los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal [z -score -1 (-2,4 – -0,4) DE] y que los pacientes con fenotipo clásico [z -score -1,5 (- 2,3 – -0,9) DE] ($p<0,005$). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la talla al final del estudio entre los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal y los pacientes con fenotipo clásico.

Se analizaron y se compararon las alteraciones electrolíticas en cada grupo de fenotipo clínico. No se hallaron diferencias significativas en la kalemia, en la natremia, en la cloremia, en la calcemia, ni en los valores de bicarbonato en plasma entre los tres grupos de fenotipo clínico. Igualmente, tampoco hubo diferencias en el porcentaje de pacientes con hiponatremia e hipocloremia. Por otro lado, los pacientes con fenotipo Gitelman presentaron un magnesio medio en plasma significativamente menor ($1,6 \pm 0,3$ mg/dl) que el resto de fenotipos clínicos ($p=0,018$). En cuanto a los valores de las excreciones fraccionadas de sodio, cloro y potasio en orina al diagnóstico, globalmente la pérdida de sodio, de potasio y de cloro en orina era mayor en los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal que en el clásico y que en el Gitelman, sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Entre los signos clínicos, el retraso de crecimiento fue el más frecuente en los tres grupos, sin observarse diferencias significativas: el 76% de los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal, el 74% de los pacientes con fenotipo clásico y el 66% de los pacientes con fenotipo Gitelman presentaron un fallo de medro al diagnóstico. La hipotonía fue más frecuente en el grupo de pacientes con fenotipo antenatal o neonatal (76%) que en el grupo de pacientes con fenotipo clásico (57%) y en el grupo de pacientes con fenotipo Gitelman (16%) siendo estas diferencias significativas ($p=0,041$). Por el contrario, los calambres y la astenia fueron casi exclusivos del grupo con fenotipo Gitelman hallándose en el 50% de los pacientes, mientras que en el grupo de pacientes con fenotipo Clásico solamente estuvo presente en el 8%, y en ningún paciente con fenotipo antenatal o neonatal se describió este signo clínico ($p=0,008$). Por otro lado, no se observaron diferencias entre los tres grupos de fenotipo en la frecuencia del resto de signos clínicos de presentación como la poliuria, la polidipsia, el estreñimiento o en el número de pacientes en los que el diagnóstico se realizó fortuitamente.

Por último, los pacientes con fenotipo clínico de Síndrome de Bartter Antenatal o Neonatal fueron los que más frecuentemente desarrollaron nefrocalcinosis a lo largo de la evolución (24%) en comparación con los pacientes con fenotipo de Síndrome de Bartter Clásico (11%) y los pacientes con fenotipo similar al Síndrome de Gitelman (0%). Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. En cuanto a la enfermedad renal crónica, en los tres grupos hubo pacientes que desarrollaron enfermedad renal crónica sin hallar diferencias significativas entre los tres grupos de pacientes (antenatal o neonatal 17% vs. clásico 23% vs. Gitelman 66%).

En resumen, en este apartado en el que se comparan las características clínicas de los pacientes de los tres grupos de fenotipo clínico de presentación, podemos decir que los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal y fenotipo clásico presentaron una edad al diagnóstico y un peso de recién nacido menor que los pacientes con fenotipo Gitelman. Así mismo, en cuanto a los signos clínicos, la hipotonía fue más frecuente en los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal, mientras que los calambres, la astenia, la debilidad muscular y las palpitaciones fueron exclusivos de los pacientes con fenotipo Gitelman. En cuanto al crecimiento, los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal y fenotipo clásico presentaron una talla final más baja que los pacientes con fenotipo Gitelman. Por otro lado, salvo en el magnesio, no se hallaron diferencias significativas en las alteraciones hidroelectrolíticas en sangre y en orina entre los tres grupos de fenotipo. Los pacientes con fenotipo Gitelman presentaron una magnesemia menor al diagnóstico de la enfermedad que los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal o fenotipo clásico. Por último, no se observaron diferencias significativas en cuanto al desarrollo de nefrocalcinosis y al desarrollo de enfermedad renal crónica a largo plazo entre los tres grupos de fenotipo clínico.

3.10. Descripción de las familias con más de un miembro afecto de Síndrome de Bartter Tipo III

En nuestra cohorte, en cuatro familias existía más de un miembro afecto de Síndrome de Bartter Tipo III (familia SOR 24, SOR 54, SOR 104, SOR 124). En la Figura 24 se muestran los pedigrís de estas familias, y en la Tabla 22 las principales características clínicas de estos pacientes.

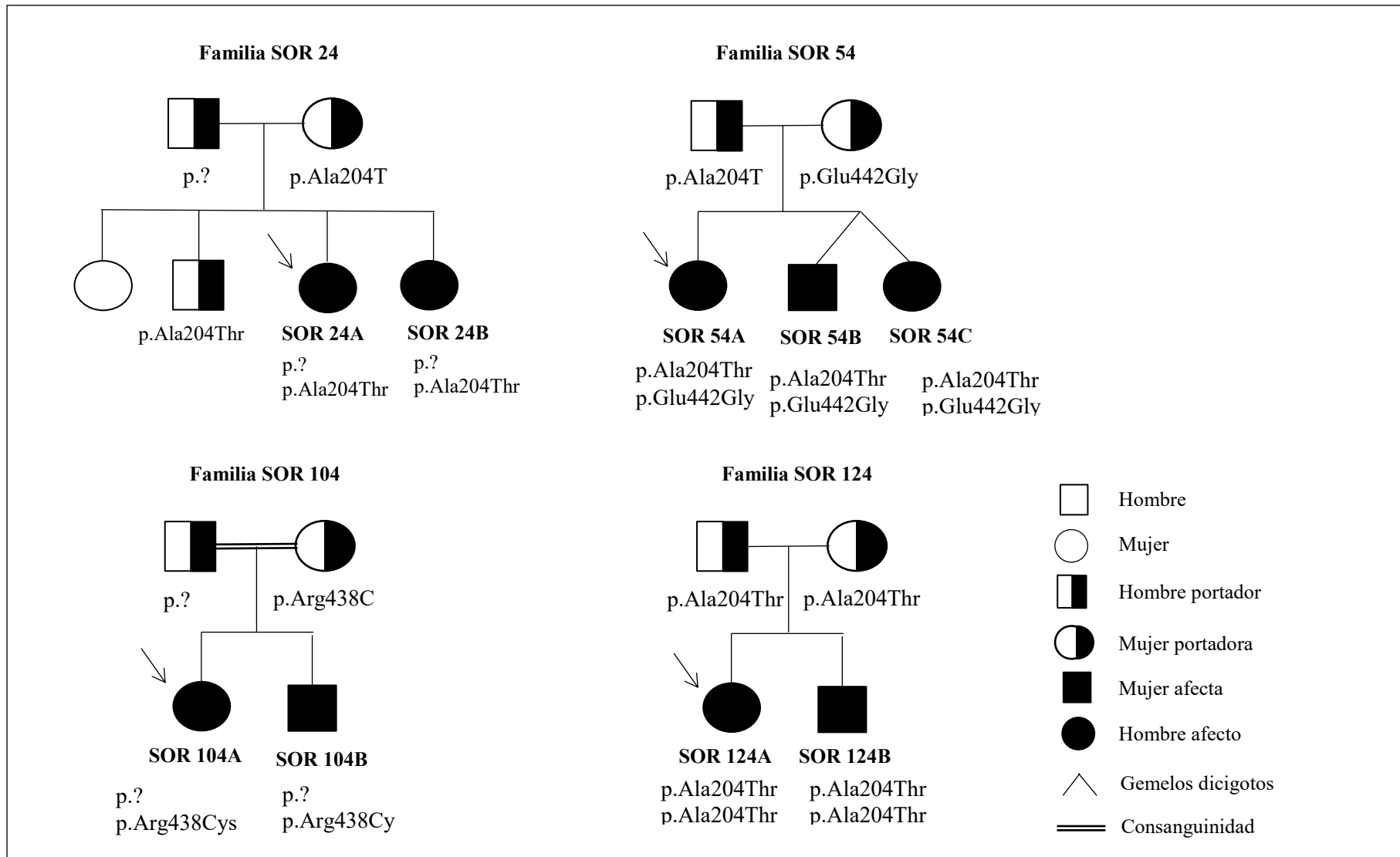


Fig. 24. Pedigrí de las familias en los que hay más de un miembro afecto de Síndrome de Bartter Tipo III. Con una flecha se señalan los casos índices de cada familia.

Tabla 22. Características clínicas de las familias con más de un miembro afecto de Síndrome de Bartter Tipo III

Familia	Paciente	PH/EG	Edad diagn. (años)	Peso diagn. (z-score)	Talla diagn. (z-score)	Plasma (diagnóstico)					Calciuria final	NC	HipoMg final	ERC
						Na	K	Cl	Bic.	Mg				
SOR 24	SOR 24A	No/ 40	0,9	- 4,8	-3,8	130	1,8	94	32	1,6	Normal	No	Si	No
	SOR 24B	No/40	17	+1	+1,8	137	2,9	96	33	1,3	Normal	No	Si	No
SOR 54	SOR 54A	No/42	0,5	-0,6	-0,8	134	2,9	80	33	1,6	Normal	ND	Si	Si
	SOR 54B	No/38	0,33	-1,8	-0,5	130	2,1	80	32	1,6	Normal	No	Si	No
	SOR 54C	No/38	0,33	-0,7	+0,2	145	2,2	85	32	2,2	Normal	ND	Si	Si
SOR 104	SOR 104A	Si/39	0,18	-1,7	+0,2	125	2,9	85	38	1,8	Normal	No	Si	No
	SOR 104B	Si/34	0	-1,4	+0,3	140	2,8	92	29	2	Baja	No	Si	No
SOR 124	SOR 124A	No/37	0,67	-3	-1	137	3,2	94	50	1,7	Normal	No	No	No
	SOR 124B	Si/32	0,50	-3,4	-4	130	1,4	89	36	2,2	Alta	No	No	No

PH: polihidramnios durante el embarazo (si/no) /**EG:** edad gestacional (semanas).

Edad diagn.: edad diagnóstico de la enfermedad

Peso diagn. y Talla diagn.: z-score del peso y de la talla al diagnóstico expresado en desviaciones estándar.

Plasma (diagnóstico): valores bioquímicos al diagnóstico. Consideramos hiponatremia Na < 135 mEq/l, hipokalemia ≤ 3,5 mEq/l, hipocloremia ≤ 95 mEq/l, alcalosis metabólica: bicarbonato (mEq/l) en pretérminos: > 18; 0-2 años: > 22; 2-18 años: > 24; > 18 años: > 26 mEq/l). Hipomagnesemia (HipoMg): recién nacidos < 1,2 mg/dl, niños y adultos < 1,6 mg/dl.

Calciuria final: calciuria normal, alta o baja al final del estudio

NC: Desarrollo de nefrocalcinosis a lo largo de la evolución (si/no)

ERC: desarrollo de enfermedad renal crónica (si/no)

ND: no determinado

En la familia SOR 24, los pacientes SOR 24A y SOR 24B estaban afectados de Síndrome de Bartter Tipo III. Presentaban la variante p.Ala204Thr en heterocigosis combinada con una gran deleción del otro alelo. A raíz del diagnóstico de estos dos casos, se estudiaron a sus dos hermanos mayores: un hermano era portador de la variante p.Ala204Thr en heterocigosis y el otro hermano no presentaba ninguna variante en el gen *CLCNKB*. No existía consanguinidad entre ambos progenitores y se realizó el estudio molecular en ambos, confirmándose la segregación familiar. La paciente SOR 24A nació a término en el año 1984. Fue diagnosticada clínicamente de Síndrome de Bartter a los 11 meses de edad con un fenotipo clínico de Síndrome de Bartter Clásico en contexto de poliuria, polidipsia y retraso ponderoestatural con una hipokalemia, hiponatremia, alcalosis metabólica con calciuria normal. El diagnóstico genético se obtuvo a los 7 años de edad. Al final del estudio tenía 34 años de edad, y su peso y su talla eran normales. Asociaba una hipomagnesemia y no desarrolló nefrocalcinosis ni enfermedad renal crónica a lo largo de la evolución. Su hermana SOR 24B, a pesar de ser mayor que SOR24A, se diagnosticó en el año 1992 a los 17 años a raíz del diagnóstico de la hermana. Presentó un fenotipo clínico similar al Síndrome de Gitelman, sin polihidramnios durante el embarazo y nació a término con un peso normal. Refería una historia de astenia y apetencia por la sal con un desarrollo ponderoestatural normal. Además, presentaba una hipokalemia, una alcalosis metabólica con hipomagnesemia. El sodio y el cloro en plasma y la calciuria fueron normales. Al final del estudio, tenía 44 años de edad, no presentaba nefrocalcinosis y su función renal era normal.

En la familia SOR 54, tres miembros de la familia (SOR 54A y los gemelos dicigotos SOR 54B y SOR 54C) estaban afectados de Síndrome de Bartter Tipo III. En ambos se hallaron dos variantes *missense* en homocigosis: la p.Ala204Thr y la p.Glu442Gly. No existía consanguinidad entre ambos progenitores, y se confirmó que ambos eran portadores de una de las variantes. Ninguno de los pacientes afectados presentó polihidramnios durante el embarazo y todos nacieron a término. El paciente SOR 54A fue diagnosticado clínicamente a los 6 meses de edad, y los gemelos SOR 54B y SOR 54C a los 4 meses de edad, todos ellos con un fenotipo clínico de Síndrome de Bartter Clásico. Los tres hermanos presentaron un cuadro de estancamiento ponderal con hipokalemia y alcalosis metabólica con calciuria normal. El paciente SOR 54A no desarrolló nefrocalcinosis a lo largo de la evolución, y en sus hermanos no obtuvimos datos de la ecografía renal. A largo plazo, el paciente SOR 54A desarrolló una enfermedad renal crónica tras 31 años de evolución. Entre los hermanos gemelos, SOR 54B

presentó una función renal normal a largo plazo, sin embargo, SOR 54C desarrolló una enfermedad renal crónica tras 23 años de evolución. Los tres hermanos presentaron una hipomagnesemia al final del estudio, y el crecimiento a largo plazo fue normal.

En la familia SOR 104, los dos hermanos SOR 104A y SOR 104B estaban afectados de Síndrome de Bartter Tipo III. En el estudio molecular se halló la variante *missense* p.Arg438Cys en heterocigosis compuesta con una gran delección. No existía consanguinidad entre ambos progenitores, y se confirmó la segregación familiar hallándose una de las variantes en heterocigosis en cada uno de ellos. Ambos hermanos presentaron un fenotipo antenatal con polihidramnios durante el embarazo. El paciente SOR 104A nació a término, mientras que el paciente SOR 104B nació prematuro a las 34 semanas de gestación. El caso SOR 104A fue diagnosticado a los tres meses de vida en contexto de una hipotonía generalizada con poliuria y retraso ponderal. En el paciente SOR 104B, debido al polihidramnios y al antecedente del hermano afecto, existía una sospecha de Síndrome de Bartter desde el periodo antenatal que se confirmó tras la realización del estudio molecular en las primeras semanas de vida. Presentó una poliuria con pérdida ponderal al nacimiento e hipotonía generalizada. En la analítica ambos presentaron una hipokalemia con alcalosis metabólica e hipocloremia. Además, en el caso SOR 104A, se halló una hiponatremia al diagnóstico. A lo largo de la evolución, el paciente SOR 104B desarrolló una hipocalciuria y SOR 104A mantuvo una calciuria normal. Por otro lado, ambos pacientes presentaron una hipomagnesemia al final del estudio. Ninguno de los dos hermanos desarrolló nefrocalcinosis ni enfermedad renal crónica a largo plazo y ambos presentaron un crecimiento normal al final del estudio.

Por último, en la familia SOR 124, las hermanas SOR 124A y SOR 124B presentaban la variante p.Ala204Thr en homocigosis. Ambos progenitores eran portadores de esta variante. La paciente SOR 124A presentó polihidramnios durante el embarazo y nació prematura a las 32 semanas de gestación. Por el contrario, la paciente SOR 124B no presentó polihidramnios y nació a término. Ambas hermanas fueron diagnosticadas en los primeros meses de vida en contexto de fallo de medro y vómitos con hipokalemia, alcalosis metabólica e hipocloremia con calciuria normal. La paciente SOR 124B presentó además una hiponatremia (130 mEq/l). El magnesio fue normal en ambas en todo momento, sin embargo, la paciente SOR 124B presentó una hipercalciuria al final del estudio. Por otro lado, ninguna de las dos hermanas presentó nefrocalcinosis ni enfermedad renal crónica a largo plazo. En cuanto al crecimiento,

mientras que SOR 124B recuperó el crecimiento, y tras 2,7 años de seguimiento tenía una talla normal al final del estudio (*z-score* de talla al diagnóstico -4DE y al final del estudio -0,9 DE). Por el contrario, el paciente SOR 124A presentó un empeoramiento de la talla y al final del estudio, tras un tiempo de evolución de 6,4 años, presentó una talla patológica (*z-score* de talla al diagnóstico -1 DE y al final del estudio -2,7 DE).

4. CARACTERÍSTICAS MOLECULARES

En cuanto a las características moleculares, en nuestra cohorte de 49 pacientes de 44 familias se hallaron 14 variantes diferentes en el gen *CLCNKB*: 7 tipo *missense*, 4 *frameshift*, 1 variante *nonsense*, 1 pequeña delección y una gran delección de 19 exones del gen *CLCNKB*. En la Tabla 23 se describe cada una de las variantes y en la Figura 25 se muestra la localización de las variantes en la proteína CIC-Kb y, en el caso de la delección, su localización en el gen *CLCNKB*. Las variantes halladas en cada paciente de la cohorte se especifican en el Anexo 13.

Se analizó la distribución de las variantes halladas en toda la cohorte en general y según la procedencia de los pacientes (Figura 26). Todos los pacientes de nuestra cohorte tenían variantes en ambos alelos del gen *CLCNKB* (44 familias, n=88 alelos), el 75% en homocigosis. El tipo de variante más frecuente en toda la cohorte fue el cambio de sentido o *missense* hallándose en 68/88 (78%) alelos; dentro de las variantes *missense*, la p.Ala204Thr fue la más frecuente encontrándose en 57/88 (65%) de todos los alelos de la cohorte. En segundo lugar, se hallaron las grandes deleciones en 10/88 (11%) alelos, seguido por las variantes *frameshift* en 7/88 (8%), las variantes *nonsense* en 2/88 (2%) y las pequeñas deleciones en 1/88 (1%) alelos. Todas las grandes deleciones en nuestra cohorte se extendían desde el exón 1 al exón 19 del gen *CLCNKB*.

Entre los 41 pacientes procedentes de 36 familias españolas (n=72 alelos), las variantes *missense* se encontraron en 66/72 (91%) alelos: en 55/72 (76%) alelos se halló la p.Ala204Thr y en 11/72 (15%) alelos se hallaron otras variantes *missense*. En segundo lugar, se encontraron las grandes deleciones en 5/72 (7%) alelos. Por último, en un alelo (1%) se observó una variante *nonsense* y en otro (1%) una variante *frameshift*. Entre 41 pacientes españoles de la cohorte, en 27 pacientes de 26 familias españolas se halló la variante p.Ala204Thr en homocigosis, en un paciente se halló una gran delección en homocigosis y en otro paciente se halló la variante

nonsense p.Arg595* en homocigosis. El resto de pacientes presentaron dos variantes en heterocigosis compuesta. En la Tabla 24 se especifican las variantes halladas en los pacientes según el país de origen.

Tabla 23. Descripción de las 14 variantes halladas en el gen CLCNKB.

Nucleótido	Proteína	Exón	Tipo	Ref.
c.610G>A	p.Ala204Thr	7	<i>Missense</i>	(70, 179, 257, 258, 306-308)
c.1325A>G	p.Glu442Gly	14	<i>Missense</i>	(164, 196, 257, 306)
c.508G>A	p.Val170Met	6	<i>Missense</i>	(179, 196, 261, 306, 309)
c.170G>A	p.Gly57Glu	3	<i>Missense</i>	-
c.371C>T	p.Pro124Leu	5	<i>Missense</i>	(70, 179, 261)
c.1729G>A	p.Ala577Thr	16	<i>Missense</i>	-
c.1312C>T	p.Arg438Cys	14	<i>Missense</i>	(70, 179)
c.1783C>T	p.Arg595*	17	<i>Nonsense</i>	(179, 193, 196)
c.753delG	p.(Leu252Serfs*97)	8	<i>Frameshift</i> (1)	(196)
c.1026delC	p.(Ser343Alafs*6)	11	<i>Frameshift</i> (1)	(196)
c.18dupG	p.(Leu7Alafs*3)	2	<i>Frameshift</i> (1)	(193)
c.1389delA	p.(Tyr466fs*13)	14	<i>Frameshift</i> (1)	(187)
c.1192_1203del12	p.(Ile398_Thr401del)	12	Pequeña del. (12)	(257)
c.(?-12)_(1961+?)del	p.?	1-19	Gran deleción	(310)

Del.: deleción

Tipo: tipo de variante.

En las pequeñas deleciones y las variantes *frameshift* se expresa el número de nucleótidos delecionados o duplicados

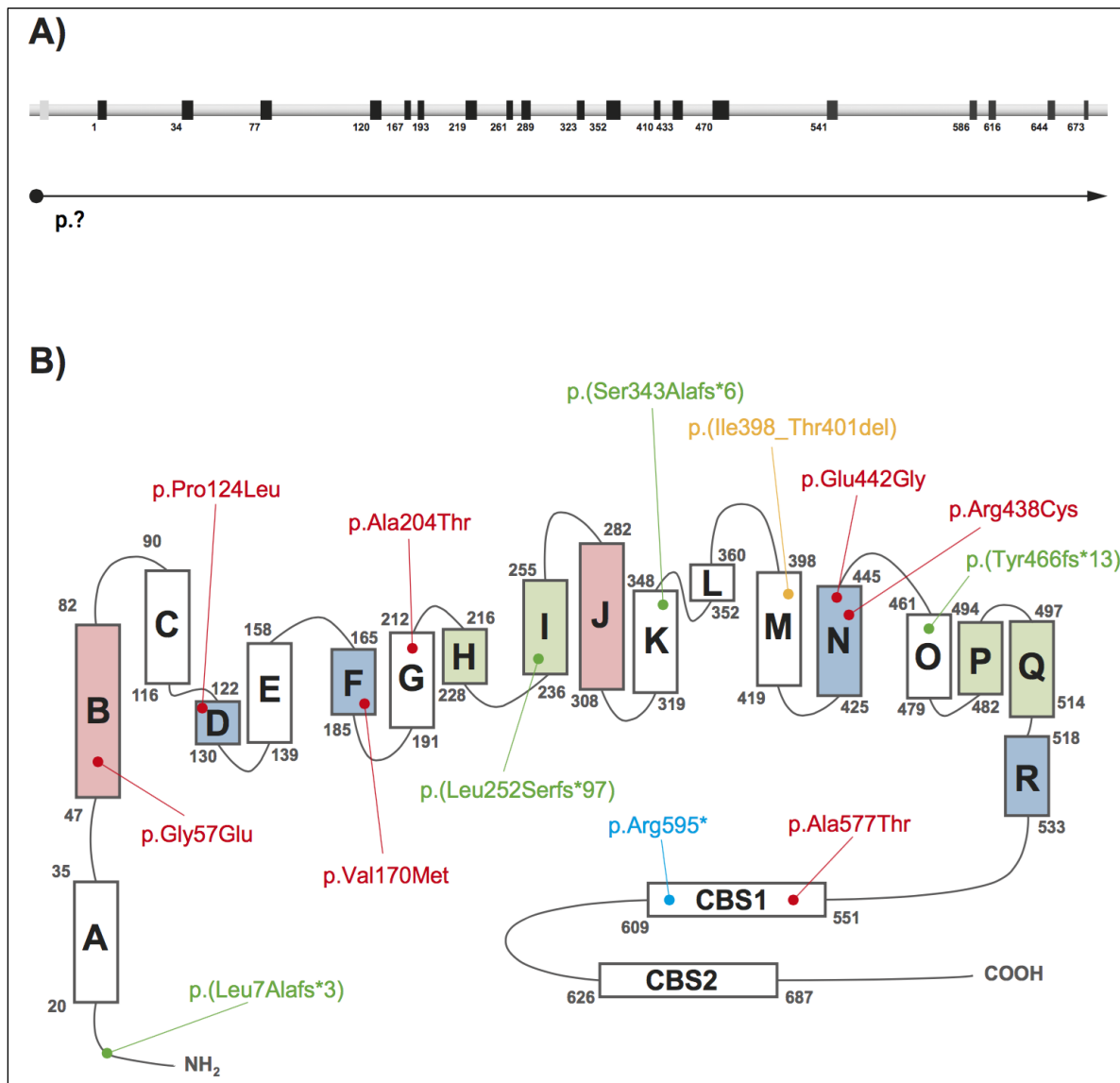


Fig. 25. Localización de las variantes halladas en el gen *CLCNKB* en nuestra cohorte n=14 variantes).

A) Estructura del gen *CLCNKB* que muestra la gran deleción hallada en nuestra cohorte que comprende desde el exón 1 hasta el exón 19 **B)** Representación esquemática de la localización de las variantes puntuales halladas en nuestra cohorte en la proteína CIC-Kb. Cada rectángulo representa a cada una de las 18 hélices *alfa* y a los dos dominios cistationina-beta-sintasa (CBS1 y CBS2). Las hélices *alfa* tienen distintas funciones: las implicadas en el paso del cloro se muestran en color azul, las que interactúan con la subunidad Bartina se muestran en color verde y las situadas en la interfase del dímero se muestran en color rosa. Las variantes *missense* se muestran en letra roja, las *frameshift* en verde, las *nonsense* azul y la pequeña deleción en naranja.

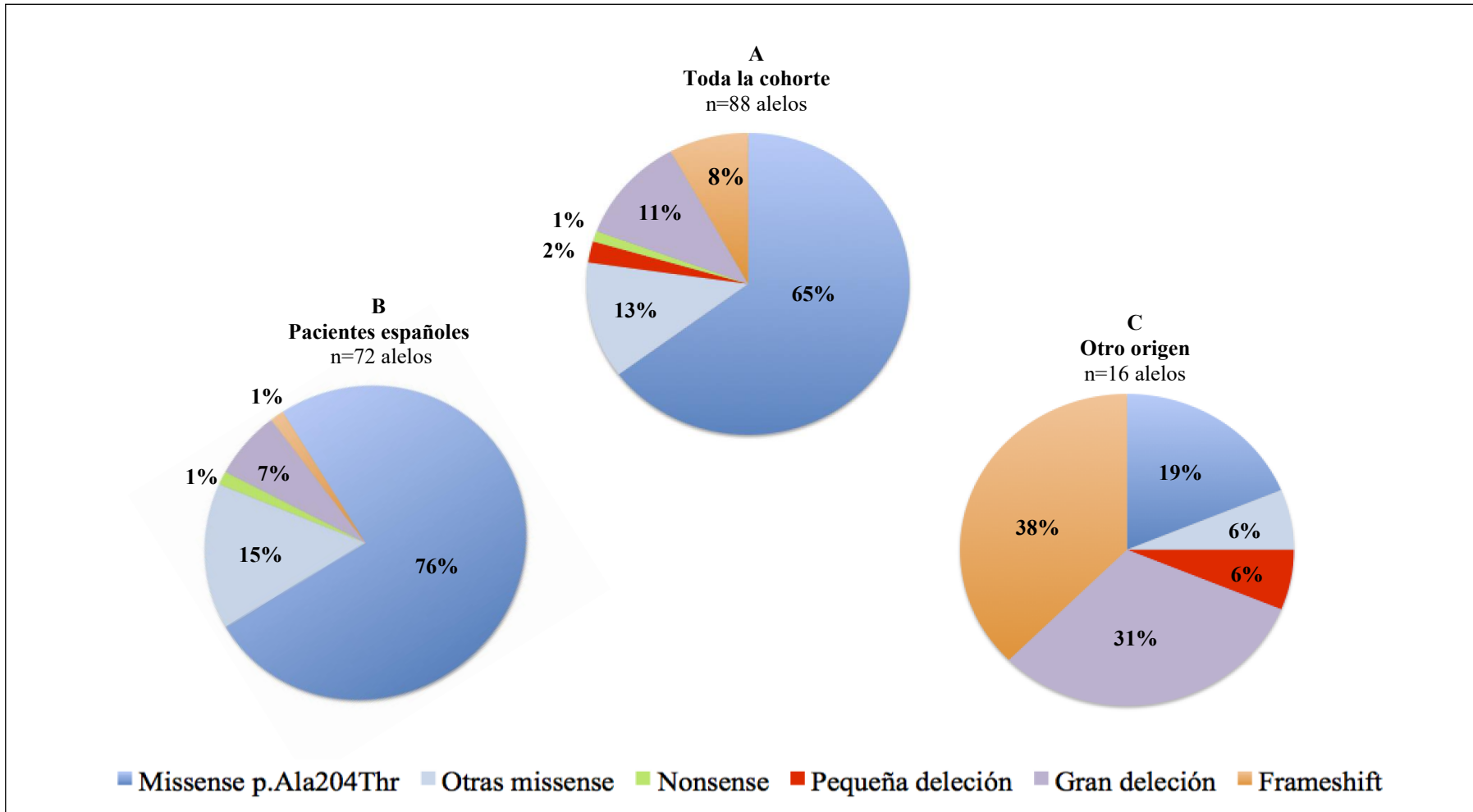


Fig. 26. Distribución de los tipos de variantes en el gen *CLCNKB*.

A) Distribución general de los tipos de variantes en toda la cohorte (n=88 alelos). La variante más frecuente fue la *missense* suponiendo el 78% de los alelos: el 65% fueron p.Ala204Thr y el 13% otras *missense*, **B)** Tipos de variantes en los pacientes españoles (n=72 alelos). El tipo de variante más frecuente fue la *missense* (91% alelos): 76% p.Ala204Thr, y 15% otras *missense*, **C)** Tipos de variantes en los pacientes procedentes de otros países (n=16 alelos): *frameshift* (38% de los alelos), gran deleción (31% alelos), *missense* (p.Ala204Thr 19% y otras *missense* 6%) y pequeña deleción (6%).

Tabla 24. Variantes halladas en los pacientes según el origen (n=88 alelos)

Origen (n° alelos)	Variante (n° de alelos)
España (72)	<i>Missense</i> p.Ala204Thr (55) <i>Missense</i> p.Arg438Cys (1) <i>Missense</i> p.Ala577Thr (2) <i>Missense</i> p.Gly57Glu (2) <i>Missense</i> p.Glu442Gly (3) <i>Missense</i> p.Val170Met (1) <i>Nonsense</i> p. Arg595Ter (2) Gran deleción exón 1-19 (5) <i>Frameshift</i> p.(Ser343Alafs*6) (1)
Grecia (2)	<i>Frameshift</i> p.Tyr466fs*13 (2)
África del Norte (2)	Gran deleción, exón 1-19 (2)
África Subsahariana (4)	Gran deleción, exón 1-19 (3) Pequeña deleción p.(Ile398_Thr401del) (1)
América Latina (8)	<i>Missense</i> p.Ala204Thr (3) * <i>Missense</i> p.Pro124Leu (1) + <i>Frameshift</i> p.(Leu7Alafs*3) (2) ± <i>Frameshift</i> p.(Leu252Serfs*97) (2) ∞

* Perú, Brasil

+Argentina

± Argentina, Brasil

∞ Perú

Entre los 3 pacientes de la cohorte de origen africano (África del Norte y África Subsahariana) de etnia negra (n=6 alelos), en 5/6 (83%) alelos se halló una gran deleción: en dos pacientes se halló una gran deleción en homocigosis y en un paciente se halló una gran deleción en heterocigosis compuesta con la pequeña deleción p.(Ile398_Thr401del). Entre los 4 pacientes con origen en América Latina de etnia hispana (n=8 alelos), el 50% eran variantes *missense*

mientras que el otro 50% eran variantes *frameshift*. La variante p.Ala204Thr se halló en un paciente de origen peruano en homocigosis, y en un paciente de Brasil en heterocigosis compuesta con una variante *frameshift* p.(Leu7Alafs*3). Por otro lado, un paciente de Perú presentó la variante *frameshift* p.(Leu252Serfs*97) en homocigosis. Un paciente de Argentina presentó la variante *missense* p.Pro124Leu en heterocigosis compuesta con la variante *frameshift* p.(Leu7Alafs*3). Finalmente, un paciente de Grecia presentó la variante *frameshift* p.(Tyr466fs*13) en homocigosis.

Entre todas las variantes halladas en nuestra cohorte, dos variantes *missense*, la p.Ala577Thr y la p.Gly57Glu, no estaban previamente descritas en la literatura sobre pacientes de Síndrome de Bartter Tipo III. Así mismo, dos variantes *frameshift*, la p.(Ser343Alafs*6) y la p.(Leu252Serfs*97), aunque han sido publicadas previamente por nuestro grupo de investigación, no se han hallado en ningún otro paciente con Síndrome de Bartter Tipo III. A continuación, se describen estas variantes y los pacientes que las presentaron.

Por un lado, el paciente SOR 195, de origen español y de etnia caucásica, presentaba la variante *missense* p.Ala577Thr en homocigosis. Este paciente se diagnosticó clínicamente de Síndrome de Gitelman los 23 años de edad en contexto de clínica de debilidad y síncope de repetición con hipopotasemia (2 mEq/l), hipomagnesemia (1,3 mg/dl), alcalosis metabólica (bicarbonato en plasma 35 mEq/l) e hipocloremia (85 mEq/l). No se disponía de datos perinatales. Al final del estudio tenía 48 años de edad y, aunque presentó una mejoría de la kalemia (3 mEq/l) y de la magnesemia (1,6 mg/dl), la clínica persistía y presentaba ingresos repetidos por síncope e hipopotasemia severa. Su función renal fue normal y no desarrolló nefrocalcinosis. Se realizó el estudio molecular a un progenitor y a sus cuatro hermanos, hallándose en la madre y en dos de los hermanos la variante p.Ala577Thr en heterocigosis. Esta variante genera un cambio de aminoácido de alanina por treonina en el exón 16 del gen *CLCNKB*. Hasta la actualidad no se han publicado estudios funcionales en el canal del cloro relacionados con esta variante, y los análisis *in silico* la consideraron como una variante benigna (Panther, Mutation Taster, SNP&GO, PROVEAN, Polyphen2). Sin embargo, se trata de una variante rara, encontrándose en las bases de datos genómicas públicas (1000 Genomes, Project, GnomAD y dbSNP) con una frecuencia muy baja en heterocigosis (*Minor Allele Frequency* < 0,01). Además, en este paciente se descartó la presencia de variantes en el gen del Síndrome de Gitelman (gen *SLC12A3*). Por todo lo anterior, aunque la guía del Colegio Americano de Genética Médica

ACMG (del inglés, *American College Medical Genetics*) la clasifica como probablemente benigna, consideramos que en nuestro paciente la variante p.Ala577Thr en homocigosis fue causante de la enfermedad.

Los pacientes SOR 137 y SOR 163, ambos de origen español y de etnia caucásica, presentaron la variante *missense* p.Gly57Glu en heterocigosis compuesta. Por un lado, el paciente SOR 137 presentó esta variante en heterocigosis compuesta con una gran deleción. Presentó un fenotipo clínico antenatal con polihidramnios durante el embarazo y nació prematuramente a las 33 semanas de gestación con un peso de recién nacido de 1500g. En periodo neonatal tuvo poliuria con hipopotasemia (2 mEq/l), hiponatremia (130 mEq/l), alcalosis metabólica (bicarbonato 34 mEq/l) y hipocloremia (87 mEq/l) con un retraso de crecimiento severo en las primeras semanas de vida (*z-score* de peso y de talla de -4 DE y -5 DE, respectivamente). Al final del estudio tenía 3 años de edad y, aunque las alteraciones electrolíticas mejoraron, persistía la hipokalemia (2,8 mEq/l) la alcalosis metabólica (bicarbonato 32 mEq/l) y la hipocloremia (95 mEq/l). Así mismo, al final del estudio la función renal fue normal, pero se observó una nefrocalcinosis en la ecografía renal. En este paciente se descartó la presencia de variantes en otros genes responsables de los demás tipos de Síndrome de Bartter (genes *SLC12A1*, *KCNJ1*, *CLCNKA*, *BSND*). Por otro lado, el paciente SOR 163, presentó la variante p.Gly57Glu en heterocigosis compuesta con la variante p.Ala204Thr. Se diagnosticó clínicamente a los 14 años de edad con un fenotipo clínico clásico en contexto de calambres de las cuatro extremidades con una hipokalemia (2,4 mEq/l), alcalosis metabólica (bicarbonato 34 mEq/l) e hipocloremia (90 mEq/l). El magnesio y la calciuria fueron normales. En el momento del diagnóstico clínico, el crecimiento del paciente fue normal (*z-score* talla -0,9 mEq/l) asociando un peso bajo (*z-score* -2 DE). Al final del estudio, tras un año de seguimiento, las alteraciones hidroelectrolíticas mejoraron presentando una hipokalemia de 3,4 mEq/l y una hipocloremia de 93 mEq/l. En la ecografía renal se observó una hiperecogenicidad renal bilateral desde el diagnóstico de la enfermedad y la función renal fue normal en todo momento.

En ambos pacientes SOR 137 y SOR 163 con la variante p.Gly57Glu se confirmó la segregación hallándose uno de los cambios en heterocigosis en cada progenitor. Hasta la actualidad esta variante no se ha descrito en la literatura sobre el Síndrome de Bartter Tipo III. Se trata de una variante *missense* que genera un cambio de aminoácido de glicina por glutamina en el exón 3 del gen *CLCNKB*. En el análisis *in silico*, la mayoría de los *software* de predicción

la consideraron como una variante causante de enfermedad (Mutation Taster, Polyphen2, SIFT, PROVEAN, Panther, SNP&GO). Además, no se encuentra en las bases de datos genómicas públicas (1000 Genomes, Project, GnomAD y dbSNP) por lo que se trata de una variante muy rara (MAF=0) en la población general. Aunque según la guía ACMG es una variante de significado incierto (VOUS, del inglés, *Variant of Uncertain Significance*), en nuestra cohorte, teniendo en cuenta que ambos pacientes presentaron una clínica característica de Síndrome de Bartter asociando, además, en el otro alelo una variante descrita en el Síndrome de Bartter Tipo III, consideramos que era causante de la enfermedad.

En el paciente SOR 81, de origen español y de etnia caucásica, se halló la variante *frameshift* p.(Ser343Alafs*6) en heterocigosis compuesta con la variante *missense* p.Glu442Gly. Este paciente se diagnosticó a los 4 años de vida con un fenotipo clásico de Síndrome de Bartter en contexto de estancamiento ponderal (*z-score* de peso -2 DE y de talla -1,3 DE), con hipokalemia (2,4 mEq/l), con alcalosis metabólica (bicarbonato 35 mEq/l) y con hipocloremia (86 mEq/l). Su función renal fue normal en todo momento y no desarrolló nefrocalcinosis. Se realizó el estudio molecular en ambos progenitores hallándose una de las variantes en cada progenitor. En la literatura, la variante p.(Ser343Alafs*6) no está descrita en ningún otro paciente con Síndrome de Bartter Tipo III. Hasta la actualidad, no existen estudios funcionales realizados con esta variante en la literatura sobre el Síndrome de Bartter Tipo III. Esta variante da lugar a una delección de un nucleótido en el exón 1 del gen *CLCNKB* que interrumpe el marco de lectura y que conduce, probablemente, a una proteína defectuosa incapaz de realizar su función. Es una variante rara (MAF=0), que no se ha hallado en los estudios poblacionales realizados hasta la actualidad. Además, tanto los análisis *in silico* (*Mutation Taster*) como la guía ACMG la consideran causante de enfermedad.

Por otro lado, en el paciente SOR 90 se halló la variante *frameshift* p.(Leu252Serfs*97) en homocigosis. Este paciente era procedente de Perú y de etnia hispana. Fue diagnosticado clínicamente a los 6 meses de edad con un fenotipo clásico de Síndrome de Bartter en contexto de vómitos y fallo de medro (*z-score* de peso -3,4 DE y de talla -1,4 DE) con una hipokalemia (2,6 mEq/l), una hiponatremia (123 mEq/l), una alcalosis metabólica (bicarbonato 60 mEq/l) y una hipocloremia (87 mEq/l). Presentó una nefrocalcinosis desde el diagnóstico de la enfermedad y su función renal fue normal en todo momento. Se realizó el estudio molecular en un progenitor, confirmándose el estado portador de la variante. La variante *frameshift*

p.(Leu252Serfs*97) no está descrita previamente en ningún otro paciente con Síndrome de Bartter Tipo III ni tampoco existen estudios funcionales realizados con ella. Es un variante que da lugar a la deleción de un nucleótido en el exón 8 del gen *CLCNKB* generando un stop codón. Además, se trata de una variante rara, encontrándose en las bases de datos genómicas públicas (TOPMED) con una frecuencia muy baja en heterocigosis (*Minor Allele Frequency* < 0,000008) y la guía ACMG la considera una variante patogénica.

En resumen, en relación a las características moleculares de la cohorte, las variantes tipo *missense* fueron las más frecuentes, seguido de las grandes deleciones, las variantes *frameshift*, las variantes *nonsense* y las pequeñas deleciones. Entre los pacientes españoles la variante *missense* p.Ala204Thr fue la más frecuente, y entre los pacientes de origen africano las grandes deleciones.

5. DESCRIPCIÓN DE LOS PACIENTES CON LA VARIANTE ESPAÑOLA p.Ala204Thr EN HOMOCIGOSIS

En nuestra cohorte, las variantes tipo *missense* fueron las más frecuentes de nuestra cohorte y, entre ellas, la variante española p.Ala204Thr fue la más prevalente. En total, 27/49 (55%) pacientes procedentes de 26 familias presentaron la variante p.Ala204Thr en homocigosis. En este apartado, se describen las características clínicas de estos pacientes (Tabla 25).

Entre los 27 pacientes en los que se halló la variante p.Ala204Thr en homocigosis, 10/27 (37%) eran hombres y 17/27 (63%) eran mujeres. En cuanto a la procedencia de los pacientes, 26/27 (96%) eran españoles de etnia caucásica y 1/27 (4%) paciente era procedente de Perú de etnia hispana.

En relación a los datos perinatales, 9/27 (33%) pacientes presentaron polihidramnios durante el embarazo. La media de edad gestacional al nacimiento fue 38 ± 2 semanas y 6/27 (22%) nacieron prematuramente (≤ 37 semanas). La media del peso de recién nacido fue 292 ± 530 gr.

Tabla 25. Características de los pacientes con la variante p.Ala204Thr en homocigosis (n=27 pacientes)

	Valor	Nº Pacientes (%)
Procedencia española	-	26 (96%)
Polihidramnios		9 (33%)
Edad gestacional, semanas *	38 ± 2	
Prematuridad (< 37 semanas)	-	6 (22%)
Peso de recién nacido, gr *	2921 ± 530	
Fenotipo clínico de presentación		
Antenatal	-	10 (37%)
Clásico		14 (52%)
Gitelman		3 (11%)
Edad diagnóstico, mediana (P25-75) **	1,6 (0,65-3)	-
≤ 2 años	-	18 (66%)
2-18 años	-	7 (26%)
≥ 18 años	-	2 (8%)
Desarrollo ponderoestatural [∞]		
Peso al diagnóstico, <i>z-score</i> en DE **	-2,8 (-3,7 – -1,5)	-
Peso al final del estudio, <i>z-score</i> en DE **	-1 (-2 – -1)	-
Talla al diagnóstico, <i>z-score</i> en DE **	-2 (-3,1 – -1)	-
Talla al final del estudio, <i>z-score</i> en DE **	-1 (-2,7 – -0,4)	-
Alteraciones electrolíticas al diagnóstico:		
Potasio (mEq/l) *, VN > 3,5-4.5	2,4 ± 0,7	-
Sodio (mEq/l) *, VN 135-145	134 ± 4	-
Hiponatremia, < 135 mEq/l	-	9 (33%)
Cloro (mEq/l) *, VN > 95-105	87 ± 4	-
Hipocloremia, ≤ 95 mEq/l		18 (67%)

Bicarbonato (mEq/l) *, VN: RNPT 16-18, RNT 16- 22, 0 y 2 años > 18-22, 2-18 años 22-24 y ≥ 18 años 24-26	31 ± 5	-
Magnesio (mg/dl) * VN RN 1,2-2,2; niños/adultos 1,6-2,5	2,1 ± 0,5	-
Hipomagnesemia, RN < 1, , niños y adultos < 1,6 mg/dl	-	4 (15%)
Calcio (mg/dl) *, VN: RN 7,6-10,5; niños/adultos 8,5-10	9,7 ± 1,1	-
Hipercalciuria/Hipocalciuria al diagnóstico	-	7 (26%) / 1 (4%)
Nefrocalcinosis	-	4 (15%)
Enfermedad renal crónica al final del estudio	-	8 (30%)

* Valor expresado en media ± desviación estándar

** Valor expresado en mediana (P25-75)

∞ Pacientes pediátricos de la cohorte (n=25 pacientes)

VN: valor normal RN: recién nacido, RNPT: recién nacido pretérmino

Al diagnóstico de la enfermedad, 10/27 (37%) presentaron un fenotipo antenatal o neonatal, 14/27 (52%) pacientes presentaron un fenotipo clásico y 3/27 (11%) pacientes un fenotipo Gitelman. La mediana de edad de diagnóstico clínico de la enfermedad de los 27 pacientes con la variante p.Ala204Thr en homocigosis fue 1,6 (0,65-3) años, y 25/27 (92%) pacientes se diagnosticaron en la infancia (< 18 años): 18/27 (66%) eran igual o menores de dos años, y 7/27 (26%) tenían entre 2 y 18 años. Solamente dos pacientes se diagnosticaron en la edad adulta (8%). En cuanto a los datos antropométricos, la mediana del *z-score* del peso al diagnóstico de los pacientes pediátricos fue -2,8 (-3,7 – -1,5) DE. La mediana del *z-score* de la talla al diagnóstico de la enfermedad de los pacientes pediátricos fue -2 (-3,1 – -1) DE.

En relación a las alteraciones hidroelectrolíticas, los pacientes presentaron una media de potasio en plasma al diagnóstico de 2,4 ± 0,7 mEq/l, de sodio 134 ± 4 mEq/l, de cloro 87 ± 4 mEq/l y de bicarbonato 31 ± 5 mEq/l. En 9/27 (33%) pacientes se halló una hiponatremia ≤ 130 mEq/l y en 18/27 (67%) una hipocloremia ≤ 95 mEq/l. La calcemia al diagnóstico fue de 9,7 ± 1,1 mg/dl, y todos los pacientes tuvieron un calcio normal para su edad. La media del magnesio en plasma al diagnóstico fue 2,1 ± 0,5 mg/dl, y 4/27 (15%) pacientes presentaron una hipomagnesemia (< 1,2 mg/dl en recién nacidos y < 1,6 mg/dl en niños y adultos). En 7/27 (26%) pacientes se halló una hipercalciuria y en 1/27 (4%) paciente hipocalciuria.

La mediana del tiempo de seguimiento de los pacientes con la variante p.Ala204Thr en homocigosis fue de 14 (8-28) años. Al final del estudio, el 83% de los pacientes pediátricos presentaron una mejoría del peso y de la talla. La mediana del *z-score* del peso al final del estudio de los pacientes pediátricos fue de -1 (-2 – -1) DE y la mediana del *z-score* de la talla -1 (-2,7 – -0,4) DE. Entre todos los pacientes, 4/27 (15%) casos presentaron nefrocalcinosis y 8/27 (30%) pacientes desarrollaron enfermedad renal crónica.

En resumen, la mayoría de los pacientes con la variante p.Ala204Thr en homocigosis presentaron un fenotipo clínico clásico y se diagnosticaron antes de los dos años de edad. Los pacientes presentaron una mejoría de peso y de talla a lo largo del seguimiento. Al diagnóstico, un tercio presentaron hiponatremia y más de la mitad hipocloremia. La nefrocalcinosis fue poco frecuente y un tercio de los pacientes presentaron un deterioro crónico de la función renal.

6. CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO

Para realizar el análisis de correlación genotipo-fenotipo de nuestra cohorte, inicialmente, se estudiaron los tipos de variantes que presentaban en el gen *CLCNKB* los pacientes de cada grupo de fenotipo clínico de presentación (Tabla 26).

Entre todos los alelos con variantes *missense* de nuestra cohorte (n=68 alelos), el 38% se hallaron en pacientes con fenotipo clínico presentación similar al Síndrome de Bartter Antenatal o Neonatal, el 46% en pacientes con fenotipo clínico de Síndrome de Bartter Clásico y el 16% en pacientes con fenotipo clínico similar al Síndrome de Gitelman. Las variantes *frameshift* y *nonsense* halladas en nuestra cohorte (n=9 alelos) se hallaron solamente en pacientes con fenotipo antenatal o neonatal (22%) y fenotipo clásico (68%). Por otro lado, las grandes deleciones en el gen *CLCNKB* (n=10 alelos) se hallaron sobre todo en pacientes con fenotipo antenatal o neonatal (40%) y fenotipo clásico (50%), aunque un paciente con fenotipo Gitelman presentó un alelo con una gran deleción. Por último, el único alelo de la cohorte con una pequeña deleción se halló en un paciente con fenotipo clásico.

Tabla 26. Distribución de los tipos de variantes según el fenotipo clínico de presentación

(n=88 alelos)

	Tipo de variante			
	<i>Missense</i> n=68 alelos	<i>Frameshift/ Nonsense</i> n=9 alelos	Gran delección n=10 alelos	Pequeña delección n=1 alelo
Fenotipo antenatal/neonatal	26 (38%)	2 (22%)	4 (40%)	-
Fenotipo clásico	33 (46%)	7 (78%)	5 (50%)	1 (100%)
Fenotipo Gitelman	9 (16%)	-	1 (10%)	-

A continuación, basándonos en estudios funcionales publicados en la literatura, se clasificaron los alelos mutados de la cohorte dependiendo de la conductancia residual que generaban en el canal del cloro ClC-Kb: **1)** Variantes con pérdida total (PT) de la función del canal el cloro ClC-Kb con una conductancia residual menor del 20% y, **2)** Variantes con pérdida parcial (PP) de la función del canal el cloro ClC-Kb con una conductancia residual igual o mayor del 20%. En el anexo 12 se muestran las variantes halladas en cada paciente y si se trataba de variantes que daban lugar a pérdida total (PT), o pérdida parcial (PP) de la función del ClC-Kb. Para conocer la correlación genotipo-fenotipo, los pacientes se clasificaron en dos grupos según la conductancia residual que daban lugar la combinación de las variantes que presentaron: **1)** Pacientes con genotipo PP + PT o genotipo PT+PT que presentan una función residual del canal ClC-Kb igual o menor del 20% **2)** Pacientes con genotipo PP + PP que presentan una función residual del canal ClC-Kb igual o mayor del 20%. En la Tabla 27 se muestra el resumen las características clínicas de cada grupo de pacientes, así como las comparaciones realizadas.

Tabla 27. Correlación genotipo-fenotipo. Características según la función residual del canal del cloro CIC-Kb (n=45 pacientes)

	Conductancia residual del CIC-Kb \leq 20% n=17		Conductancia residual del CIC-Kb $>$ 20% n=28		Valor p
	Valor	Nº Pacientes	Valor	Nº Pacientes	
Edad al diagnóstico, años **	0,4 (0,06-2)	-	0,8 (0,6-2,2)	-	ns
Polihidramnios		4 (24%)		11 (39%)	ns
Edad gestacional, semanas	38 \pm 2		38 \pm 2		ns
Prematuridad (< 37 semanas)	-	1 (14%)	-	6 (19%)	ns
Peso de recién nacido, gramos	3205 \pm 428		3098 \pm 700		ns
Fenotipo clínico de presentación					
Antenatal/Neonatal	-	5 (29%)	-	11 (39%)	ns
Clásico	-	10 (59%)	-	14 (50%)	ns
Gitelman	-	2 (12%)	-	3 (11%)	ns
Electrolitos en plasma al diagnóstico:					
Kalemia (mEq/l) *, VN > 3,5-4,5	2,4 \pm 0,3		2,6 \pm 0,6		ns
Natremia (mEq/l) *, VN 135-145 mEq/l	133 \pm 7		134 \pm 4		ns
Hiponatremia (mEq/l) *, < 135		6 (35%)		11 (39%)	ns
Cloremia (mEq/l) *, VN > 95-105	81 \pm 8		89 \pm 5		0,004

Hipocloremia, ≤ 95 mEq/l		11 (65%)		10 (36%)	0,03
Bicarbonato (mEq/l) * VN: RNPT 16-18, RNT 16- 22, 0 y 2 años 18-22, 2-18 años 22-24 y ≥ 18 años 24-26	33 ± 4		32 ± 5		ns
Calcemia (mg/dl) * VN: RN 7,6-10,5; niños/adultos 8,5-10)	$10,5 \pm 0,7$		$9,7 \pm 1$		ns
Magnesemia (mg/dl) * VN : RN 1,2 -2,2; niños/adultos 1,6-2,5	$2 \pm 0,3$		$2 \pm 0,5$		ns
Hipomagnesemia, RN $< 1,2$; niños/adultos $< 1,6$ mg/dl		2 (14%)		4 (13%)	ns
Hiper calciuria al diagnóstico		5 (29%)		7 (25%)	ns
Nefrocalcinosis/litiasis al final del estudio	-	3 (17%)	-	4 (14%)	ns
Crecimiento					
Talla final, <i>z-score</i> en DE **	-1 (-1,9 – -0,4)		-1 (-2 – -0,4)		ns
Talla final patológica, <i>z-score</i> ≤ -2 DE		3 (18%)		8 (28%)	ns
Enfermedad Renal Crónica	-	3 (18%)	-	8 (28%)	ns

* Valor de la media \pm DE

** Valor de la mediana (P25-75)

VN: valor normal RN: recién nacido, RNPT: recién nacido pretérmino

En total, en nuestro estudio, se clasificaron según el genotipo 45 de los 49 pacientes del total de la cohorte. En el resto de pacientes no se disponía de estudios funcionales de las variantes halladas en el gen *CLCNKB*, por lo que se desconocía la conductancia residual que presentaban en el canal ClC-Kb. Entre los 45 pacientes, 17 (38%) pacientes presentaron un genotipo que daba lugar a una conductancia residual del canal del cloro igual o menor del 20%, y 28 (62%) pacientes presentaron un genotipo que daba lugar a una conductancia residual del canal del cloro mayor del 20%. Se compararon las características clínicas al diagnóstico y a largo plazo entre los dos grupos de genotipo. Por un lado, no se hallaron diferencias significativas en la edad de diagnóstico de la enfermedad entre ambos grupos. La mediana de edad al diagnóstico de los pacientes con variantes que dan lugar a una función residual del canal del cloro igual o menor del 20% fue 0,4 (0,06-2-2) años de edad, y la mediana de edad al diagnóstico de los pacientes cuyas variantes daban lugar a una función residual mayor del 20% fue 0,8 (0,6-2) años de edad. Así mismo, no se observaron diferencias en el porcentaje de pacientes que presentaron polihidramnios durante el embarazo (24% vs. 39%), en el porcentaje de pacientes que fueron prematuros (14% vs. 19%), ni tampoco en la media de la edad gestacional (38 ± 2 vs. 38 ± 2 semanas), ni en el peso medio de recién nacido (3205 ± 428 vs. 3098 ± 700 gr) entre ambos grupos de genotipo. En cuanto al fenotipo clínico de presentación, el fenotipo de Síndrome de Bartter Clásico (59% vs. 50%) fue el más frecuente en los dos grupos de genotipo, seguido por el fenotipo Antenatal o neonatal (29% vs. 39%) y el fenotipo Gitelman (12% vs. 11%), sin hallar diferencias significativas entre los dos grupos de genotipo.

Por otro lado, se analizó si existían diferencias en severidad de las alteraciones hidroelectrolíticas al diagnóstico de la enfermedad entre ambos grupos. No observamos diferencias significativas en la kalemia media ($2,4 \pm 0,3$ vs. $2,6 \pm 0,6$ mEq/l), en la natremia media (133 ± 7 vs. 134 ± 4 mEq/l) ni en el número de pacientes con hiponatremia (35% vs. 39%). Sin embargo, la cloremia media fue significativamente menor en los pacientes con genotipo más severo (81 ± 8 mEq/l vs. 89 ± 5 mEq/l; $p=0,004$). Igualmente, el número de pacientes con hipocloremia fue mayor (65% vs. 36%; $p=0,003$) en pacientes con genotipo severo.

Por otro lado, la media de la calcemia fue similar en ambos grupos ($10,5 \pm 0,7$ vs. $9,7 \pm 1$ mg/dl), y no hubo diferencias significativas en los valores medios de magnesio en plasma al diagnóstico ($2 \pm 0,3$ vs. $2 \pm 0,5$ mg/dl) ni en el número de pacientes de pacientes con

hipomagnesemia al diagnóstico (14% vs. 13%). Igualmente, el porcentaje de pacientes con hipercalciuria al diagnóstico fue similar en ambos grupos (29% vs. 25%), así como el porcentaje de pacientes que desarrollaron nefrocalcinosis (17 vs. 14%).

Por último, se analizó si el genotipo tuvo relación con el pronóstico en cuanto a la talla final y a la función renal de los pacientes. Por un lado, no se observaron diferencias significativas en la mediana de la talla final entre ambos grupos de genotipo [*z-score* -1 (-1,9 – -0,4) vs. *z-score* -1 (-2 – -0,4)] ni tampoco en el porcentaje de pacientes con talla patológica al final del estudio (18% vs. 28%). Por otro lado, tampoco existieron diferencias en el porcentaje de pacientes con enfermedad renal crónica al final del estudio entre ambos grupos (18% vs. 28%).

En resumen, no se halló ninguna correlación genotipo-fenotipo en nuestra cohorte de pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, excepto en la cloremia de los pacientes. Los pacientes cuyas variantes daban lugar a una conductancia residual de cloro en el canal ClC-Kb igual o menor del 20% presentaron una hipocloremia más severa que los pacientes cuyas variantes daban lugar a una conductancia residual del canal del cloro mayor del 20%.

7. DESCRIPCIÓN DE LOS EMBARAZOS Y SUS COMPLICACIONES EN LAS MUJERES CON SÍNDROME DE BARTTER TIPO III

A lo largo de la evolución, tres mujeres afectas de Síndrome de Bartter Tipo III (SOR 5, SOR 8 y SOR 105) tuvieron ocho embarazos. Todos los embarazos fueron planificados suspendiéndose los antiinflamatorios no esteroideos previamente.

La paciente SOR 5 tuvo tres embarazos, uno de ellos no progresó presentando un aborto en el primer trimestre. Durante los embarazos, presentó varios episodios de hipopotasemia en contexto de vómitos que requirieron ingreso hospitalario. Además, en el momento del embarazo presentaba una enfermedad renal crónica estadio II sin observarse un empeoramiento de la función renal durante el embarazo ni tras el parto. Por otro lado, la paciente SOR 8 presentó tres embarazos, dos de ellos no progresaron presentando un aborto en la semana 8 y 37, respectivamente. El tercer embarazo transcurrió sin complicaciones. En el caso del aborto de la semana 37, en la anatomía patológica de la placenta se describieron microinfartos, considerándose como posible causa del aborto. Por último, la paciente SOR 105 presentó dos embarazos que transcurrieron con normalidad. Los recién nacidos en todos los casos tuvieron un periodo perinatal normal sin complicaciones.

En resumen, todos los embarazos que tuvieron las mujeres de nuestra cohorte fueron planificados, y las complicaciones fueron muy poco frecuentes.

VI. DISCUSIÓN

1. FENOTIPOS CLÍNICOS DE PRESENTACIÓN EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III

A lo largo del tiempo, en el Síndrome de Bartter se han establecido distintos patrones clínicos permitiendo clasificar la enfermedad en cinco tipos. Por un lado, tenemos los tipos antenatales o neonatales Tipo I, Tipo II y Tipo IV, con presentación clínica severa desde el periodo antenatal con polihidramnios durante el embarazo. Por otro lado, el Síndrome de Bartter Tipo III o el Síndrome de Bartter Clásico, tiene una presentación clínica menos severa y más tardía durante la infancia. Por último, el Síndrome de Bartter Tipo V, se trata de una forma transitoria antenatal o neonatal de Síndrome de Bartter, donde los pacientes presentan un polihidramnios severo y clínica durante el periodo neonatal, pero que se resuelve las primeras semanas de vida. En todos los tipos de Síndrome de Bartter, dependiendo del grado de afectación del asa de Henle y de los segmentos distales a éste, existe una pérdida de sal por orina más o menos severa dando lugar a una hipersecreción variable de prostaglandina E₂, y, por lo tanto, a una hiperactivación variable del sistema renina-angiotensina-aldosterona lo que explicará la gravedad de la sintomatología en cada una de ellas (155).

El Síndrome de Bartter Tipo III es secundario a la disfunción del canal del cloro ClC-Kb. Este canal se expresa en la membrana basolateral del segmento grueso del asa ascendente de Henle, en el túbulo contorneado distal y en el túbulo colector reabsorbiendo cloro hacia el torrente sanguíneo (190). Por lo tanto, los pacientes tendrán una disfunción secundaria de todos estos segmentos y, consecuentemente, deberían de presentar una clínica severa. No obstante, en comparación con los tipos antenatales, la presentación clínica es más tardía y menos severa, con una afectación menos grave de la capacidad de concentración de la orina. Este fenotipo menos severo se ha atribuido a los mecanismos que existen a lo largo del túbulo renal para compensar la pérdida de cloro por orina, lo que permite, en cierto modo, mantener la función de los segmentos en los que se expresa el canal de cloro ClC-Kb. Entre los mecanismos de compensación están el canal de cloro ClC-Ka que está localizado a lo largo de todo el asa ascendente de Henle (segmento grueso y fino), el cotransportador KCl situado en el segmento grueso del asa ascendente de Henle, el regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (*CFTR*), situado a lo largo del túbulo renal, o el intercambiador Cl/H ClC-5 en el túbulo proximal (59, 178, 179, 187).

Sin embargo, entre los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III se ha observado que existe un amplio espectro de severidad en la presentación clínica. Aunque la mayoría de los pacientes se diagnostican a lo largo de la infancia sin polihidramnios durante el embarazo con un fenotipo de Síndrome de Bartter Clásico, existen pacientes con presentación clínica antenatal o neonatal similar al Tipo I, Tipo II o Tipo IV, o con presentación clínica similar al Síndrome de Gitelman con hipomagnesemia y/o hipocalciuria en la adolescencia o en la edad adulta (179, 311). En nuestra cohorte, entre los 49 pacientes, el 35% presentó un fenotipo clínico similar al Síndrome de Bartter Antenatal o Neonatal, el 53% presentó un fenotipo clínico de Síndrome de Bartter Clásico, y el 12% un fenotipo clínico similar al Síndrome de Gitelman. En una serie de 115 pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III se observó una tendencia similar, donde el 30% de los pacientes presentaron un fenotipo antenatal o neonatal, un 44% un fenotipo clásico y un 26% de los pacientes un fenotipo Gitelman (179). Algunos autores sugieren que la heterogeneidad en la presentación clínica del Síndrome de Bartter Tipo III está relacionada con la variabilidad interindividual que pueda existir en el grado de compensación de la pérdida de cloro por orina a través de otros transportadores de cloro a lo largo del túbulo, como se ha comentado previamente. Además, no se puede excluir que algunos pacientes puedan presentar variantes alélicas en los genes que codifican estos canales de cloro compensatorios compensando de manera variable en cada caso la pérdida de función del canal ClC-Kb (181, 312, 313). Por otro lado, en algunos estudios la severidad clínica de la enfermedad también se ha relacionado con el genotipo de los pacientes (179). El aspecto genotipo-fenotipo en el Síndrome de Bartter Tipo III se discute más adelante, en el apartado 11.

2. CARACTERÍSTICAS PERINATALES EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III

En los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III el polihidramnios durante el embarazo y, consecuentemente, la prematuridad es menos frecuente que en los tipos antenatales o neonatales (Tipo I, II, IV y V). Mientras que en los pacientes con tipos antenatales o neonatales de Síndrome de Bartter el polihidramnios está presente en prácticamente todos los casos con una alta tasa de prematuridad, en el Síndrome de Bartter Tipo III alrededor de un 15-30% de los pacientes desarrollan polihidramnios, y solamente alrededor del 10-15% son prematuros (179, 193). Además, debido a la poliuria severa que presentan, en el Síndrome de Bartter Tipo IV y Tipo V el polihidramnios se detecta precozmente durante el embarazo, entre las semanas

19 y 25 de gestación, y en el Síndrome de Bartter Tipo I y II entre las semanas 25 y 27 de gestación precisando en algunas ocasiones un amniodrenaje. Por el contrario, en el Síndrome de Bartter Tipo III el polihidramnios se observa más tardíamente, generalmente entre las semanas 36 y 41 de gestación, en relación a la menor poliuria de estos pacientes (154, 189, 198). En nuestra cohorte de pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, los resultados hallados fueron similares al resto de estudios, donde un 33% de los pacientes presentaron polihidramnios y el 15% fueron prematuros. Aunque se desconocía la semana exacta en la que se diagnosticó el polihidramnios, ningún paciente precisó la realización de un amniodrenaje, por lo que es posible que se haya detectado de manera tardía en las últimas semanas del embarazo como en la mayoría de pacientes con este tipo de Síndrome de Bartter.

Por otro lado, cabe comentar que la prematuridad supone un riesgo añadido en los pacientes con tubulopatías pierde sal en los primeros días de vida, tanto por el manejo de las alteraciones hidroelectrolíticas, como por las complicaciones propias de la prematuridad. Por lo tanto, el hecho de que en el Síndrome de Bartter Tipo III la prematuridad sea menos frecuente puede contribuir en que, generalmente, la enfermedad se presente como un cuadro menos severo que los tipos antenatales o neonatales.

3. EDAD AL DIAGNÓSTICO DEL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III

La mayoría de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III se diagnostican en la infancia, en el 50-70% de los casos a partir del año de edad (179, 187, 193). En nuestra cohorte, el 94% de los pacientes se diagnosticaron en la infancia o en la adolescencia: el 60% de la cohorte eran menores de un año y el 34% eran mayores de un año de edad al diagnóstico. Solamente 3 pacientes de la cohorte se diagnosticaron en la edad adulta. La edad al diagnóstico de los pacientes con fenotipo similar al Síndrome de Gitelman fue significativamente mayor que la de los pacientes con fenotipo clínico antenatal o neonatal y fenotipo clásico. Sin embargo, no existieron diferencias significativas en la edad al diagnóstico entre los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal y fenotipo clásico. En una serie de 115 pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III se hallaron diferencias significativas en la edad al diagnóstico entre los tres grupos de fenotipo clínico, e incluso la edad de los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal fue significativamente menor que la edad de los pacientes con fenotipo clásico (179). En nuestra

serie, dentro del grupo de pacientes con fenotipo antenatal o neonatal, a pesar de presentar una historia de polihidramnios, 4 pacientes se diagnosticaron tardíamente entre los 2 y los 6 años de edad, lo que podría explicar que no existieran diferencias significativas en la edad al diagnóstico entre los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal y fenotipo clásico. Así mismo, un paciente (SOR 100) con fenotipo clásico, se diagnosticó a los 26 años de edad en el año 1984. No obtuvimos datos perinatales de este paciente y no presentó hipocalciuria ni hipomagnesemia al diagnóstico, por lo que se consideró un paciente con fenotipo clínico clásico y con diagnóstico tardío, al igual que otros pacientes diagnosticados en esa época.

Por otro lado, se analizó si existía una relación entre la edad y el año del diagnóstico clínico. Se observó que la mediana de edad al diagnóstico fue significativamente mayor en los pacientes diagnosticados antes del año 2000, que la edad de los pacientes diagnosticados posteriormente al año 2000. También se observó que los pacientes diagnosticados antes del año 2000 tenían un fenotipo Gitelman con una frecuencia significativamente mayor. La primera descripción del Síndrome de Bartter se realizó en 1962 por Bartter y colaboradores, pero la genética del Síndrome de Bartter Tipo III no se describió hasta 1997 (70, 156). Probablemente, el desarrollo de la genética molecular a partir de la década de los 90 ha permitido un mejor conocimiento de la enfermedad facilitando el diagnóstico precoz. Este hecho podría explicar que, la edad al diagnóstico de los pacientes diagnosticados clínicamente antes del año 2000 fuese significativamente mayor que la de los pacientes diagnosticados posteriormente a ese año. Así mismo, también podría explicar que cuatro pacientes de nuestra cohorte con fenotipo antenatal o neonatal y un paciente con fenotipo clásico se diagnosticaran más tarde en la infancia o en la edad adulta. Así mismo, también podría explicar que la edad al diagnóstico de los pacientes con fenotipo Gitelman, todos ellos diagnosticados previamente al año 2000, fuera mayor que la de los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal y clásico. Sin embargo, también es posible que los pacientes con fenotipo similar al Síndrome de Gitelman presenten un efecto compensador tubular del canal de cloro CIC-Kb mayor que el resto de pacientes, lo que explicaría que su clínica haya sido más leve en los primeros años de vida conllevado un diagnóstico más tardío de la enfermedad.

4. SIGNOS CLÍNICOS Y DESARROLLO NEUROLÓGICO EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III

La sintomatología en el Síndrome de Bartter Tipo III es inespecífica, y suele ser común a otras tubulopatías pierde sal. Los signos clínicos más frecuentes al diagnóstico de la enfermedad son el retraso de crecimiento y la poliuria en todos los fenotipos clínicos de presentación (163, 179, 189). Igualmente, en nuestra cohorte, el signo clínico más frecuente al diagnóstico fue el retraso de crecimiento seguido de la poliuria y polidipsia, sin diferencias significativas entre los tres fenotipos clínicos de presentación. En segundo lugar, entre los signos clínicos de nuestra cohorte, se encontraban la hipotonía, los signos de deshidratación como los ojos hundidos, la mucosa oral seca y el estreñimiento. Estos signos fueron más frecuentes en los pacientes con fenotipo clínico antenatal o neonatal y clásico, que en los pacientes con fenotipo Gitelman. La mayoría de los pacientes con fenotipo clínico antenatal o neonatal y fenotipo clásico eran lactantes al diagnóstico y, por lo tanto, más vulnerables a situaciones de deshidratación, lo que explicaría estas diferencias entre los tres fenotipos clínicos. Por otro lado, la avidez por la sal al diagnóstico fue un signo clínico poco frecuente. Este dato es difícil de medir debido a que es una valoración subjetiva del paciente y resulta difícil conocer la cantidad de sal que añaden a los alimentos o la cantidad de ingesta diaria de alimentos salados. Por lo tanto, es posible que un porcentaje más alto de nuestra cohorte presentara un aumento de la apetencia por la sal.

Además, los calambres, la astenia, la debilidad muscular o las palpitaciones al diagnóstico se hallaron exclusivamente en los pacientes con fenotipo clínico Gitelman. Igualmente, en un estudio de 115 pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, el 20% de los pacientes con fenotipo similar al Síndrome de Gitelman y el 2% de los pacientes con fenotipo de Síndrome de Bartter Clásico presentaron astenia y calambres al diagnóstico de la enfermedad (179). Probablemente, la hipomagnesemia asociada a la hipokalemia que presentaron los pacientes fenotipo Gitelman podría explicar que los calambres se hallaran exclusivamente en pacientes con este fenotipo clínico.

Los síntomas más frecuentes derivados de la hipokalemia y la hipomagnesemia son el temblor, los calambres, las parestesias, la debilidad muscular y/o tetania, este último observándose sobre todo en los casos de hipomagnesemia. En el Síndrome de Gitelman, donde la hipokalemia y la hipomagnesemia crónica son criterios clínicos para sospechar la enfermedad, más de la mitad

de los pacientes presentan debilidad muscular, calambres, astenia, parestesia y palpitaciones (182). Además, los pacientes con hipokalemia e hipomagnesemia severas, presentan un riesgo cardiológico importante por alargamiento del potencial de acción de los cardiomiocitos dando lugar a alteraciones del ECG con alargamiento del intervalo QT en la hipokalemia o el ensanchamiento del complejo QRS en la hipomagnesemia. Todo ello provocará palpitaciones, arritmias ventriculares e incluso una muerte súbita en relación a alteraciones de la perfusión cardíaca durante el ejercicio (203, 314, 315). Así mismo, la hipokalemia también se ha relacionado con rabdomiólisis y con alteraciones neurológicas con convulsiones pudiendo llevar hasta al estado de coma en los casos más severos. Además, la hipomagnesemia, a su vez, empeora la hipokalemia, teniendo en cuenta que el magnesio intracelular en las células epiteliales del túbulo colector es esencial para regular la secreción del potasio a la luz tubular a través de los canales ROMK (316, 317). En este contexto, cabe destacar que un paciente (SOR 51) de nuestra cohorte presentó una parada cardiorrespiratoria en el momento diagnóstico en contexto de una hipokalemia severa asociado a una rabdomiólisis y, como consecuencia, una isquemia renal severa. Por otro lado, otro paciente (SOR 195), que presentó un fenotipo Gitelman con hipokalemia e hipomagnesemia al diagnóstico, refirió palpitaciones y episodios de síncope de repetición desde el diagnóstico de la enfermedad que persistían tras 25 años de seguimiento, requiriendo hospitalizaciones prácticamente todos los meses. En el electrocardiograma presentaba un intervalo QT alargado de manera intermitente además de extrasístoles ventriculares frecuentes. Aunque la hipokalemia y la hipomagnesemia, así como el intervalo QT largo se relacionaron con los episodios de síncope en este paciente, no podemos descartar que, dada la severidad del cuadro, este paciente presentara un síndrome de QT largo lo que también podría dar lugar a síncope de repetición empeorando el cuadro clínico de este paciente. En el resto de pacientes que referían palpitaciones en nuestra cohorte, en ninguno se observaron alteraciones electrocardiológicas.

Por todo lo anterior, al igual que en los pacientes con Síndrome de Gitelman, es aconsejable realizar un seguimiento cardiológico en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, haciendo especial hincapié en aquellos que presentan síntomas como palpitaciones o síncope, o que reciban algún tratamiento que altere el intervalo QT, o que empeore la hipomagnesemia y la hipokalemia (182, 318). Cabe recordar que, en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III que se someten a alguna intervención quirúrgica, la hipokalemia y la hipomagnesemia pueden potenciar los efectos locales y generales de la anestesia. Por lo tanto, es aconsejable

monitorizar los niveles plasmáticos y cerciorarse de que presentan una kalemia y magnesemia aceptables antes de cualquier intervención quirúrgica (319).

Aparte de los signos clínicos comentados, en nuestra cohorte, un paciente (SOR 104A) presentó una colelitiasis en la infancia. Este paciente presentó un fenotipo antenatal con polihidramnios durante el embarazo. Nació a término a las 39 semanas de gestación sin presentar complicaciones durante el periodo neonatal, y fue diagnosticado de Síndrome de Bartter a los 2 meses de vida en contexto de fallo de medro con una calciuria normal. La edad a la que presentó la colelitiasis fue desconocida y al final del estudio tenía 13 años de edad. Las colelitiasis en la infancia son raras con una incidencia entre el 0,13 y el 0,22 %. En el 40% de los pacientes suelen ser de etiología idiopática y en otros casos se asocia a la realización de una cirugía abdominal, a la nutrición parenteral prolongada y a la prescripción de furosemida sobre todo en los pacientes prematuros (320-322). En el Síndrome de Bartter, se han descrito casos aislados de colelitiasis en pacientes con Tipos I y II. Aunque la etiología de las colelitiasis en estos casos es desconocida, se han atribuido a la prematuridad y a que los canales alterados en estos tipos de Síndrome de Bartter, como el Na-K-2Cl NKCC2 y el canal de potasio ROMK, también se expresan en los conductos hepatobiliares. Otros estudios, han sugerido que el hiperparatiroidismo secundario a la hipercalciuria en el Síndrome de Bartter pueda estar relacionado con la formación de cálculos biliares (323). Hasta la actualidad, no se ha descrito en ningún estudio que los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III tengan mayor susceptibilidad para desarrollar cálculos biliares. Nuestro paciente no presentaba ninguno de los factores de riesgo comentados para el desarrollo de colelitiasis, ni tampoco presentó ninguna enfermedad hepática. Además, no refirió nuevos episodios de colelitiasis a lo largo de la infancia. Por lo tanto, es posible que el episodio de colelitiasis haya tenido una etiología idiopática en este caso.

En cuanto al desarrollo neurológico de nuestra cohorte, un paciente presentó un retraso cognitivo en contexto de una microdelección en el cromosoma 22, y otro paciente presentó un leve retraso escolar probablemente secundario a un Trastorno de Déficit de Atención e Hiperactividad. Debido a la dificultad para homogeneizar la información sobre el desarrollo neurológico a largo plazo en los pacientes de nuestra cohorte, no obtuvimos datos objetivos en este aspecto. Aparte de los dos pacientes comentados, en el resto de pacientes no existían aparentemente datos clínicos subjetivos de retraso cognitivo en ningún paciente. En estudios

previos, en una cohorte de 115 pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, el 10% de los pacientes presentaron un retraso psicomotor y todos ellos presentaron un fenotipo clínico antenatal o neonatal y clásico. En el 6,5% de los pacientes se realizó un seguimiento neurológico a lo largo de la evolución y el 9% acudía al logopeda por trastornos del lenguaje (179). En otro trabajo, donde se comparan pacientes con distintos tipos de Síndrome de Bartter, el retraso psicomotor y la discapacidad cognitiva se describían en pacientes con tipos antenatales de Síndrome de Bartter, como el Tipo I, Tipo II y Tipo IV (179, 189). En este aspecto, se ha observado también que en otras tubulopatías primarias, que cursan con deshidratación y alteraciones hidroelectrolíticas severas desde los primeros meses de vida, los pacientes presentan un retraso neurológico a largo plazo. Por ejemplo, en la Diabetes Insípida Nefrogénica, hasta un 9% de los pacientes presentan un retraso cognitivo (324, 325). Por lo tanto, es posible que la prematuridad y los trastornos hidroelectrolíticos durante los primeros días de vida tengan un papel importante en el retraso neurológico a largo plazo. Teniendo en cuenta la heterogeneidad clínica del Síndrome de Bartter Tipo III, sería interesante en estos pacientes realizar el seguimiento del desarrollo neurológico y valorar el grado de discapacidad intelectual mediante medidas homogéneas para poder conocer la repercusión que tienen las alteraciones hidroelectrolíticas, sobre todo en aquellos pacientes con fenotipo antenatal o neonatal.

Por otro lado, el 10% de nuestra cohorte presentaron un cuadro ansioso-depresivo. Todos estos pacientes eran adultos y estaban en seguimiento por psiquiatría. En la cohorte de 115 pacientes de Seys y colaboradores, un 6,5% presentaron un trastorno psiquiátrico como trastornos de la conducta alimentaria o hiperactividad (179). Según la OMS, el 4% de la población general sufre de depresión y ansiedad, y esta prevalencia es mayor en personas con enfermedades crónicas (326-328). La prevalencia de la depresión y la ansiedad en nuestra cohorte fue mayor a la de la población general y, no se debe olvidar que, al tratarse de enfermos crónicos, probablemente presentan por esta condición un riesgo mayor de trastornos del ánimo que los pacientes sanos. Por lo tanto, es recomendable evaluar el aspecto psicológico dentro del seguimiento de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III para un abordaje precoz, con el fin de evitar un abandono del tratamiento y deterioro de la calidad de vida a lo largo de la evolución.

Actualmente no existen trabajos que estudien la calidad de vida de los pacientes con Síndrome de Bartter, y en nuestra cohorte tampoco se recogieron datos de este aspecto de la enfermedad. Sin embargo, en un estudio realizado con 50 pacientes adultos afectados de Síndrome de Gitelman, se observó que la puntuación de la calidad de vida era más baja que la de los controles (185). Durante mucho tiempo, el Síndrome de Gitelman se ha considerado una tubulopatía benigna que se diagnostica en la adolescencia o en la edad adulta con síntomas leves inespecíficos o con ausencia de éstos. No obstante, esta benignidad se ha cuestionado en algunos trabajos donde recalcan que existe una gran variabilidad fenotípica entre los pacientes, y que algunos casos pueden llegar a ser graves presentando condrocalcinosis, rabdomiólisis, arritmias, convulsiones o una presentación en una edad temprana antes de los 6 años de edad (163, 197). En estos estudios, los pacientes con Síndrome de Gitelman refieren tener una mala calidad de vida por la falta de bienestar físico y de energía debido a su enfermedad, y en general, expresaban una mala percepción de la salud. Además, los resultados de la calidad de vida de los pacientes de este estudio, se equipara a la de los pacientes con otras enfermedades crónicas como la Diabetes Mellitus, o la insuficiencia cardíaca, entre otras. Por lo tanto, al igual que en el Síndrome de Gitelman, en el Síndrome de Bartter tipo III, sería interesante valorar la calidad de vida de los pacientes, así como la integración laboral mediante encuestas validadas, y realizar estudios al respecto para conocer las necesidades que presentan a nivel socio-familiar a lo largo de la vida. De esta manera se podrían desarrollar programas de educación y apoyo para los pacientes y sus familiares.

5. ALTERACIONES HIDROELECTROLÍTICAS EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III

a) Alteraciones del cloro en plasma en el Síndrome de Bartter Tipo III

En el Síndrome de Bartter Tipo III, donde el defecto primario se encuentra en el canal del cloro CIC-Kb, la hipocloremia es una de las alteraciones hidroelectrolíticas principales junto con la alcalosis metabólica y la hipokalemia. En nuestra cohorte, el 90% de los pacientes de nuestra cohorte presentaron una hipocloremia. Globalmente, los pacientes que tenían una edad igual o menor de dos años al diagnóstico presentaron una cloremia significativamente menor que los pacientes mayores de dos años. En otros estudios que describen pacientes con Síndrome de

Bartter tipo III, se han hallado cifras variables de cloro en plasma con medianas entre 67 y 95 mEq/l, y prácticamente el 100% de los pacientes presentan un cloro menor de 95 mEq/l (189, 193, 195).

Como se ha comentado previamente, algunos autores sugieren que los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III presentan otros transportadores que compensan la pérdida de cloro a lo largo del túbulo renal como por ejemplo, el canal ClC-Ka en el asa de Henle, o el cotransportador KCl situado en el segmento grueso del asa ascendente de Henle (59, 178, 179, 187). En nuestro estudio, el hecho de que no todos los pacientes presenten hipocloremia al diagnóstico, así como el hecho de que los pacientes menores de dos años presenten una cloremia menor al diagnóstico, puede deberse a la inmadurez de estos transportadores en los primeros meses de vida, sobre todo en aquellos pacientes que nacen prematuramente. Esto podría explicar el hecho de que, aunque no se obtuvieron diferencias significativas, globalmente los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal presentaron pérdidas de cloro por orina mayores que los pacientes con fenotipo clásico o fenotipo Gitelman. No obstante, no se debe olvidar que en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III también pueden existir pérdidas extrarenales de cloro a través de los vómitos, que son frecuentes en esta enfermedad sobre todo los primeros meses de vida, lo que también puede explicar que los pacientes más pequeños, sobre todo lactantes, presenten una cloremia menor. Por otro lado, la cloremia de nuestros pacientes aumenta significativamente al final del estudio, y solamente el 49% de los pacientes presentaron una hipocloremia igual o menor de 95 mEq/l, sugiriendo que los pacientes adquieren progresivamente la madurez, o que presentan una hiperactivación de los transportadores compensatorios de la pérdida de cloro por orina. Sin embargo, se debe tener en cuenta que muchos pacientes reciben cloruro sódico como suplemento oral o ingieren altas cantidades de sal en la dieta, lo que puede contribuir a la mejoría de la cloremia en el momento en el que se realiza la analítica, sobre todo si ha pasado poco tiempo desde la última dosis.

Al analizar la cloremia de los pacientes según el fenotipo clínico, no se hallaron diferencias significativas entre los tres fenotipos clínicos de presentación. Por el contrario, en el trabajo de Seys y colaboradores de 115 pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, la mediana del cloro en plasma fue significativamente mayor en los pacientes con fenotipo Gitelman que en los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal y fenotipo clásico (179). En nuestra cohorte, la ausencia de diferencias significativas en la cloremia entre los fenotipos clínicos de presentación

puede deberse a que algunos pacientes con fenotipo antenatal tuvieran un diagnóstico tardío, y, por lo tanto, es posible que ya hubiesen adquirido la madurez de los mecanismos de compensación en el momento del diagnóstico. Por otro lado, se debe tener en cuenta que la mayoría de los pacientes de nuestra cohorte presentaron la variante p.Ala204Thr en homocigosis que, como se comentará en el apartado de correlación genotipo-fenotipo (apartado 11), se trata de una variante que no altera de manera tan severa la conductancia del canal del cloro como otras variantes, por ejemplo, las grandes deleciones. Este hecho podría explicar que no se hallaran diferencias en la cloremia en los distintos grupos de fenotipo clínico.

Finalmente, en distintos estudios se ha observado que en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III la hipocloremia es más severa que los tipos antenatales I y II. Así mismo, en el Síndrome de Bartter Tipo IVa, donde existe una disfunción primaria de la subunidad barttina necesaria para el funcionamiento del CIC-Kb, y el Síndrome de Bartter Tipo IVb donde existe una disfunción de ambos canales del cloro CIC-Ka y CIC-Kb, la hipocloremia es habitualmente más severa que en el resto de tipos antenatales de Síndrome de Bartter (179, 189). Por ejemplo, en un estudio realizado por Brochard y colaboradores donde comparan los distintos tipos de Síndrome de Bartter, en el Síndrome de Bartter Tipo I y II la mediana del cloro en plasma fue de 88 (86-93) mEq/l y de 93 (82-100) mEq/l, respectivamente. Por el contrario, en el Síndrome de Bartter Tipo III los pacientes presentan una mediana de cloro en plasma de 67 (61-79) mEq/l y en el Síndrome de Bartter Tipo IV de 80 (80-80) mEq/l (189).

En la membrana apical de las células intercaladas *beta* del túbulo colector se expresa el intercambiador Cl/HCO₃ denominado pendrina que reabsorbe hacia el interior de la célula una molécula de cloro en intercambio por una molécula de bicarbonato. La expresión de este intercambiador variará en función del cloro que llega al túbulo colector, aumentando en los casos en los que el cloro en orina está bajo. En el Síndrome de Bartter Tipo III y Tipo IV, debido al aumento del cloro en orina, la expresión de la pendrina estará disminuida. Por lo tanto, la reabsorción del cloro en este segmento estará disminuida, lo que agravará la hipocloremia (329). Por otro lado, algunos estudios en roedores han demostrado que el canal CIC-Kb se expresa también en las células intercaladas *alpha* del túbulo colector. En la membrana basolateral de estas células, en coexpresión con el canal del cloro CIC-Kb, se expresa el intercambiador AE1 Cl/HCO₃ que realiza la reabsorción de bicarbonato hacia el torrente sanguíneo en intercambio por el cloro. El CIC-Kb tiene un papel importante en la

función del AE1, ya que permite mantener la reabsorción del bicarbonato a través del AE1 realizando el reciclaje hacia el torrente sanguíneo de la molécula de cloro que se ha introducido en la célula (85, 178, 190, 205). Por lo tanto, ante un defecto de función del ClC-Kb, no existirá este reciclaje de cloro, lo que favorecerá la hipocloremia en el Síndrome de Bartter Tipo III.

Por lo tanto, podemos decir que los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, sobre todo aquellos que presentan la variante p.Ala204Thr en homocigosis, la hipocloremia es menos severa, ya que no todos los pacientes presentan una hipocloremia igual o menor del 95 mEq/l. Ese hecho puede ser debido a la capacidad de compensar las pérdidas renales de cloro de cada paciente, o al hecho de que la variante p.Ala20Thr, da lugar a una alteración menos severa de la conductancia de cloro, en comparación con otras variantes más severas.

b) Hipokalemia y alcalosis metabólica en el Síndrome de Bartter Tipo III

En el Síndrome de Bartter la pérdida excesiva de sal por orina es la causa principal de la poliuria y del hiperaldosteronismo, dando lugar a las alteraciones hidroelectrolíticas principales de la enfermedad como la alcalosis metabólica y la hipokalemia. En nuestra cohorte, más del 90% de los pacientes presentaron una kalemia igual o menor de 3 mEq/l. Al final del estudio la kalemia media de nuestra cohorte fue significativamente mayor que la del diagnóstico y, en general, la hipokalemia fue menos severa, ya que solo el 56% de la cohorte tenía una kalemia igual o menor de 3 mEq/l. Las series de pacientes publicadas con Síndrome de Bartter Tipo III describen datos similares con una kalemia media de entre 2,6 y 2,7 mEq/l y en el 90% de los pacientes la kalemia es menor de 3 mEq/l. Así mismo, en estos estudios, la kalemia mejora evolutivamente y en el 75% de los casos no alcanza los 3 mEq/l (189, 195).

La hipokalemia es una de las características principales del Síndrome de Bartter Tipo III, y puede estar asociada a complicaciones severas como temblor, calambres, las parestesias, la debilidad muscular, arritmias cardíacas, rabdomiólisis y convulsiones (202-204). Por lo tanto, la suplementación oral de potasio es uno de los pilares principales del tratamiento, sobre todo, con cloruro potásico, teniendo en cuenta que el cloro es uno de los iones que más se pierde en esta enfermedad. En nuestra cohorte, la dosis de cloruro potásico que recibían los pacientes al diagnóstico y al final del estudio no varió. Además, no hubo diferencias significativas en la kalemia en función de la dosis de potasio recibida. En el Síndrome de Bartter existe una

hiperactivación del túbulo colector para compensar la pérdida salina lo que da lugar a un hiperaldosteronismo y, secundariamente, a una secreción de grandes cantidades de potasio por orina en este segmento que, en ocasiones, supera a la cantidad filtrada por el glomérulo. Los niveles de potasio en plasma aumentan con la suplementación oral, pero el potasio se pierde en pocas horas por orina, resultando en un aumento de la cantidad de potasio que se filtra por el glomérulo y, consecuentemente, aumentando la cantidad de potasio en orina (195). Por lo tanto, aunque no existen estudios al respecto, la kalemia que se mide dependerá en gran medida del tiempo que haya pasado desde la última dosis, y por más que aumentemos la dosis, resultará difícil conseguir una kalemia estable en nuestros pacientes (5). Esto explica que, en nuestra cohorte, aunque en el momento en el que se midió la kalemia se desconocía el tiempo que había pasado desde la última dosis de potasio oral, los pacientes con una dosis de potasio mayor no presentaran una kalemia mayor. Así mismo, en nuestro estudio, un paciente (SOR 90) recibía una dosis de 20 mEq/kg/día tanto al inicio como al final del estudio. Este paciente precisó múltiples ingresos en contexto de hipokalemia severa. Se cree que en este paciente se prescribieron dosis altas de potasio en un intento de mejorar la kalemia. Sin embargo, su kalemia al final del estudio era de 2,6 mEq/l y, además, la adherencia terapéutica de este paciente no fue buena. Por lo tanto, podemos decir que, por un lado, en el Síndrome de Bartter Tipo III, a pesar de prescribir dosis altas de potasio, no conseguiremos una kalemia mayor. Por otro lado, cabe recalcar la importancia de valorar en la medida de lo posible la adherencia al tratamiento de los pacientes previo a la modificación de las dosis.

Los efectos secundarios principales del potasio oral son los gastrointestinales como las náuseas, las diarreas y las úlceras gástricas. Estos efectos secundarios son dosis-dependiente y en algunos casos pueden empeorar la kalemia por pérdidas extrarrenales de potasio. En nuestra cohorte, en tres pacientes que llevaban una dosis entre 5 y 7 mEq/kg/día se disminuyó la dosis de potasio por presentar diarreas. Los suplementos orales de potasio se deben administrar con el estómago lleno, y pueden administrarse disueltos en agua o en forma de comprimido de liberación lenta y divididos en varias dosis a lo largo del día para evitar grandes variaciones de los niveles de potasio en plasma. Se ha sugerido que, al igual que en el Síndrome de Gitelman, en el Síndrome de Bartter el objetivo del nivel de potasio en plasma sea de 3 mEq/l, aunque se sabe que algunos pacientes difícilmente alcanzan esa cifra (182, 195). Por ejemplo, en nuestra cohorte, como se ha comentado anteriormente, hasta el 56% de los pacientes, a pesar de recibir suplementos, presentaron una kalemia igual o menor de 3 mEq/l al final del estudio. Por lo

tanto, la dosis de potasio que se prescribe deberá individualizarse en cada caso buscando un equilibrio entre la mejoría de los valores en plasma y los efectos secundarios. Además, es posible que el valor considerado como objetivo pueda variar de unos pacientes a otros dependiendo de la sintomatología que presenten, o que varíe en un mismo paciente a lo largo de la evolución de la enfermedad. Así mismo, es importante aconsejar a los pacientes que tomen alimentos ricos en potasio siempre advirtiéndoles de las calorías y de la cantidad de carbohidratos que contienen algunos alimentos. No debemos olvidar que, como se ha comentado previamente, se debe evitar en la medida de lo posible, la prescripción concomitante de fármacos que empeoren la kalemia, o que alarguen el intervalo QT, para evitar complicaciones cardiológicas que pueden llegar a tener un pronóstico fatal (330).

Por otro lado, en nuestro estudio no se registraron complicaciones relacionadas con la administración de potasio endovenoso, por ejemplo, en los casos de pacientes en ayunas para intervención quirúrgica o en los ingresos por descompensaciones de la enfermedad. En este aspecto, no debemos olvidar la importancia de administrar una dosis menor de 10 meq/hora para evitar el dolor y la flebitis. Así mismo, cabe recalcar que el potasio endovenoso debe administrarse mediante una bomba de infusión para controlar el ritmo de infusión y evitar que los pacientes reciban grandes cantidades de potasio en un corto periodo de tiempo.

Al igual que con el potasio, todos los pacientes de nuestra cohorte presentaron una alcalosis metabólica al diagnóstico de la enfermedad con una media de pH en plasma de 7,5 y de bicarbonato de 33 ± 6 mEq/l. En los distintos trabajos de pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, los valores medios de bicarbonato en plasma reportados se sitúan entre 29 y 42 mEq/l. Al final del estudio, tras una mediana de tiempo de 12 años, en todos los pacientes persistió la alcalosis metabólica y aunque no se observaron diferencias significativas en los valores de bicarbonato entre el diagnóstico y el final del estudio, en el 46% de los pacientes los niveles de bicarbonato en plasma fueron superiores a los valores observados al diagnóstico con variaciones entre 3 y 5 mEq/l. En un estudio previo realizado con 13 pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III se observó también que en el 50% de los pacientes los niveles de bicarbonato aumentaron tras una mediana de tiempo de seguimiento de 14 años (193).

En el Síndrome de Bartter, la pérdida de sal y de cloro por orina hiperestimula la secreción de prostaglandina E2 en la mácula densa y, secundariamente, la secreción de renina en las células

del aparato yuxtaglomerular activando el sistema renina-angiotensina-aldosterona. El hiperaldosteronismo secundario actúa en el túbulo colector siendo la responsable de la hipokalemia y de la alcalosis metabólica típicas del Síndrome de Bartter (5). En estudios previos se ha observado que los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III presentan un hiperaldosteronismo crónico a lo largo del seguimiento secundario a la pérdida de sal y al estado de deshidratación crónica (193). En nuestra cohorte no se obtuvieron valores de renina ni de aldosterona en plasma, pero teniendo en cuenta que la alcalosis metabólica y la hipokalemia persistía en prácticamente todos los pacientes al final del estudio, consideramos que en los pacientes de nuestra cohorte también existía un hiperaldosteronismo crónico.

Por lo tanto, en el Síndrome de Bartter Tipo III, donde los pacientes mantienen un hiperaldosteronismo crónico secundario a la pérdida de sal y al estado de deshidratación crónica, es importante que reciban una ingesta hídrica adecuada, así como una suplementación con sodio oral a lo largo de toda la vida para mantener el volumen extracelular adecuado. Así, se evitarán, en la medida de lo posible, las complicaciones derivadas del hiperaldosteronismo, como, por ejemplo, el deterioro crónico de la función renal como se comentará más adelante en la discusión (230).

c) Alteraciones del sodio en plasma en el Síndrome de Bartter Tipo III

Aunque la pérdida cloruro sódico por orina es la principal causa de las alteraciones hidroelectrolíticas del Síndrome de Bartter, debido a los abundantes mecanismos compensatorios que existen a lo largo del túbulo, la hiponatremia no es un hallazgo frecuente en ninguno de los cinco tipos de esta enfermedad. En nuestra cohorte, un 39% de presentó hiponatremia al diagnóstico precisando iniciar suplementos orales. Sin embargo, al final del estudio, todos los pacientes presentaron un sodio en plasma normal, y solamente un 12% recibía suplementos orales de sodio.

Por otra parte, no hallamos diferencias significativas en la natremia ni en el número de pacientes con hiponatremia al diagnóstico entre los tres fenotipos clínicos de presentación. No obstante, en la cohorte, la media del sodio en plasma en los pacientes que eran igual o menores de dos años al diagnóstico fue significativamente menor que en los pacientes mayores de dos años. Así mismo, el porcentaje de pacientes con hiponatremia fue significativamente mayor en los pacientes menores de dos años que en los pacientes mayores de dos años. En estudios

previos, Bettinelli y colaboradores, en su cohorte de 13 pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III mostraron una tendencia similar, donde el 40% de los pacientes presentaron hiponatremia al diagnóstico, todos eran pacientes menores de 2 años, y solamente el 15% de los pacientes precisaban suplementos orales de sodio tras una mediana de tiempo de evolución de 14 años (193). La diferencia en la natremia en función de la edad de los pacientes puede estar relacionada con la inmadurez tubular presente en los primeros meses de vida y, por lo tanto, con la incapacidad de compensar las pérdidas de sal por la orina mediante otros transportadores de sodio que se expresan a lo largo del túbulo renal. Además, el hecho de que un porcentaje significativamente menor precise suplementos de sodio al final del estudio, sugiere que a lo largo de la evolución de la enfermedad existe un desarrollo de estos mecanismos de compensación. Esto podría explicar el hecho de que, en general, los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal, es decir, los más jóvenes de la cohorte y por lo tanto con mayor inmadurez del túbulo, presentaran pérdidas de sodio por orina mayores al diagnóstico que los de fenotipo clásico y fenotipo Gitelman, aunque estas diferencias no fueron significativas. Así mismo, aunque es difícil medir la cantidad de sal que toman los pacientes en la dieta, es posible que muchos de los niños mayores y adultos de nuestra cohorte fueran capaces de regular la necesidad de sal a través de la dieta, lo que también explicaría la disminución de pacientes con necesidad de aportes orales de sodio al final del estudio. Por otra parte, otro factor que podría explicar la regulación del sodio que presentan los pacientes a lo largo de la evolución es debido al papel que tienen las quinasas *WNK* [*with-no-K(Lys)*] en el túbulo renal. Las quinasas son proteínas que desempeñan funciones importantes en el control de la homeostasis del sodio y de la presión arterial en el organismo regulando la fosforilación de algunos cotransportadores de sodio como el cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 en el asa de Henle y el cotransportador Na-Cl NCC en el túbulo contorneado distal (331, 332). Debido a ello, algunos autores han sugerido que las variantes alélicas en los genes que expresan las quinasas podrían tener un papel importante también en la compensación de la pérdida de sodio en el Síndrome de Bartter (189).

En relación a las pérdidas de sodio por orina, en nuestro estudio, no existían diferencias en los valores ni en el número de pacientes con excreciones fraccionadas elevadas de sodio en orina entre los tres grupos de fenotipo clínico, observando una alta variabilidad de la natriuria. Probablemente, la variabilidad en la pérdida de sodio por orina en los pacientes, es debido a los mecanismos de compensación que existen a lo largo del túbulo, como se ha comentado

anteriormente en este apartado. Además, hay que tener en cuenta que los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III pueden presentar pérdidas extrarrenales de sodio en relación a vómitos, lo que en pacientes sanos debería daría lugar a una disminución de la excreción fraccionada de sodio por el aumento de la función tubular para compensar estas pérdidas. Este mecanismo de compensación para las pérdidas extrarrenales también podría contribuir en la variabilidad de la natriuria en nuestros pacientes. Igualmente, en un estudio, observaron que existía una alta variabilidad en la pérdida de sal por orina entre los pacientes con Síndrome de Bartter. Sin embargo, todos los pacientes, independientemente del tipo de Bartter, presentaban una excreción fraccionada de cloro elevada al diagnóstico de la enfermedad. Teniendo en cuenta que el sodio y el potasio se reabsorben en el túbulo siempre unido a un anión, en muchas ocasiones al cloro, en este estudio proponen que el cloro en orina podría ser un reflejo directo de la pérdida renal de sodio en orina en los pacientes con Síndrome de Bartter (195). En nuestra cohorte, aunque las diferencias no fueron significativas, la proporción de pacientes con excreción de cloro elevada en orina fue mayor en los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal que en los pacientes con fenotipo clásico y fenotipo Gitelman, sugiriendo que la pérdida renal de sodio era mayor en los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal. Esto que a su vez podría explicar la sintomatología más severa y precoz de los pacientes de este grupo. Además, esto podría correlacionarse con la hiperreninemia mayor de los pacientes de este grupo, como se ha demostrado en un estudio previo (179). Sin embargo, en el Síndrome de Bartter Tipo III, la pérdida de sodio es secundaria a un defecto del canal de cloro ClC-Kb, por lo que la pérdida de cloro es un hallazgo principal en estos pacientes, poniendo en entredicho su correlación con la natriuria. En nuestra cohorte, el hecho de que la pérdida de cloro sea mayor en los pacientes con fenotipo antenatal podría explicarse por la inmadurez tubular de los mecanismos de compensación en los pacientes más jóvenes, como son los de este fenotipo clínico.

Por lo tanto, en general, los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III no suelen presentar alteraciones de sodio en plasma. En algunas ocasiones se observa una hiponatremia sobre todo en aquellos pacientes que se diagnostican por debajo de los dos años de edad. Aunque la mayoría de pacientes no precisan suplementos orales de sodio, es posible que muchos pacientes regulen la necesidad de sal a través de la dieta. Por otro lado, aunque la pérdida de cloro por orina podría ser un reflejo de la pérdida de sal en el Síndrome de Bartter, el hecho de que el defecto principal en el tipo III se encuentre en el canal del cloro ClC-Kb, hace que el valor del

cloro en orina pueda estar alterado por otros factores, como, por ejemplo, por el grado de compensación que existe en el túbulo dependiendo de la edad del paciente.

d) Alteraciones del calcio y magnesio en plasma, y de la calciuria en el Síndrome de Bartter Tipo III

Al diagnóstico de la enfermedad, en el 33% de los pacientes se observó una hipercalciuria, en el 10% se detectó una hipocalciuria y en el 8% se observó una hipomagnesemia. En las distintas series de pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, el porcentaje de pacientes con hipercalciuria varía entre un 10-50%, alrededor de un 15% de los pacientes presentan hipocalciuria y un 23% presentan hipomagnesemia (189, 193, 195).

En nuestra cohorte, a lo largo de la evolución de la enfermedad, el porcentaje de pacientes con hipocalciuria y con hipomagnesemia aumentaron significativamente respecto al diagnóstico. Es decir, a lo largo de la evolución, alrededor de un tercio de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III presentan un fenotipo Gitelman, independientemente del fenotipo que presenten al diagnóstico. En el Síndrome de Bartter Tipo III, debido a la disfunción del canal de cloro CIC-Kb en asa de Henle, existe una disfunción secundaria del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 situado en el asa de Henle. Esto, a su vez, inhibirá la reabsorción paracelular del calcio y magnesio dando lugar a una hipercalciuria, y consecuentemente, el desarrollo de una nefrocalcinosis. En el asa de Henle, al contrario que en el túbulo contorneado distal, existen otros canales de cloro como el CIC-Ka y KCl que compensan la disfunción del CIC-Kb, lo que hace que la disfunción de este segmento no sea tan severa, y que los pacientes no presenten tanta alteración de la reabsorción de calcio y magnesio vía paracelular. Además, el canal de cloro CIC-Kb también se expresa en el túbulo contorneado distal, por lo que existirá una disfunción del canal Na-Cl NCC y, por consiguiente, una alteración del canal de magnesio TRPM6, así como del intercambiador Na/Ca TRVP5 dando lugar a una hipomagnesemia y una hipocalciuria, similar al Síndrome de Gitelman (155, 166). Es posible que, en el túbulo contorneado distal, al no existir ningún mecanismo de compensación como en el asa de Henle, su disfunción sea mayor con el tiempo lo que explicaría porque nuestra cohorte algunos pacientes desarrollen un fenotipo similar al Síndrome de Gitelman con los años. Así mismo, como se ha comentado previamente, no podemos descartar que los pacientes presenten variantes en los genes que codifican los canales de cloro compensadores del asa de Henle

pudiendo dar una hiperactivación o una disfunción de estos canales, contribuyendo en la variabilidad fenotípica a largo plazo del Síndrome de Bartter Tipo III (166, 178, 206).

En nuestra cohorte, solamente 2 pacientes (SOR 63 y SOR 97) presentaron una hipercalcemia al diagnóstico. Ambos pacientes se diagnosticaron con un fenotipo clásico antes de los 6 meses de edad. Uno de ellos asociaba una hipercalciuria y ninguno desarrolló nefrocalcinosis a lo largo de la evolución. La causa de las alteraciones de la homeostasis del calcio y del fósforo en el Síndrome de Bartter en general es desconocida. La hipercalciuria con aumento de la parathormona y de la 1-25-hidroxi-vitamina D, asociada en ocasiones a hipercalcemia, se ha descrito en pacientes con tipos antenatales de Síndrome de Bartter (333-336). Además, en otros trabajos se ha observado que los pacientes con Síndrome de Bartter tienen tendencia a presentar hipofosfatemia con aumento de la parathormona en plasma sin presentar alteraciones de la calcemia (337). Algunos autores han sugerido que la hipersecreción de la prostaglandina E2 podría ser la causa de la alteración de la homeostasis del calcio y del fósforo en el Síndrome de Bartter, aumentando la parathormona y la fosfaturia en contexto de la contracción del espacio extracelular. En este sentido, en algunos pacientes se ha observado una correlación positiva entre el sodio y el cloro en orina, y el fósforo en orina. Además, se ha observado que la inhibición de la hipersecreción de la prostaglandina E2 mediante indometacina disminuye la calciuria con mejoría de las alteraciones del calcio y del fósforo (337-343). La osteopenia se ha descrito sobre todo en pacientes con Tipo I y Tipo II debido a la hipercalciuria importante que presentan, aunque también se ha descrito en casos aislados de Síndrome de Bartter Tipo III (336, 344, 345). En nuestra cohorte, no obtuvimos datos del fósforo, de la parathormona ni de los niveles de vitamina D. Es probable que en los dos pacientes que presentaron la hipercalcemia en nuestra cohorte la prostaglandina E2 haya sido la causa de la elevación discreta y transitoria del calcio en plasma, teniendo en cuenta que eran lactantes en el momento del diagnóstico, presentando posiblemente una renina en plasma mayor y una hipersecreción mayor de la prostaglandina E2 que los pacientes más mayores. Aun así, no se deben olvidar otras posibles causas de hipercalcemia, como por ejemplo, la hipercalcemia iatrogénica o el hiperparatiroidismo primario (346).

Por último, en nuestra cohorte, ningún paciente recibía diuréticos tiazídicos para tratar la hipercalciuria. En la actualidad no hay datos que confirmen la eficacia de los diuréticos tiazídicos con el fin de disminuir la calciuria en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III. Además, debido a la afectación del asa de Henle, la hipertrofia compensadora del túbulo

contorneado distal es esencial para mejorar la volemia disminuyendo la natriuria, por lo que el empleo de tiazidas no aporta ningún beneficio pudiendo contribuir a la depleción crónica de volumen en estos pacientes. Por lo tanto, en la actualidad no hay indicación para su empleo en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III (347).

6. NEFROCALCINOSIS, LITIASIS Y OTRAS MALFORMACIONES RENALES EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III

La nefrocalcinosis asociada a la hipercalciuria es una característica típica del Síndrome de Bartter Tipo I y Tipo II donde prácticamente todos los pacientes la presentan desde el diagnóstico de la enfermedad (163, 189, 199, 348). En estos tipos de Síndrome de Bartter, existe una afectación severa y exclusiva del asa de Henle donde ocurre una inhibición de la reabsorción paracelular del calcio secundaria a una disfunción severa del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2. Además, la hiperactividad compensadora del túbulo contorneado distal con un aumento de función del cotransportador Na-Cl NCC en las patologías con defecto exclusivo del asa de Henle aumentan la hipercalciuria favoreciendo la nefrocalcinosis. Por el contrario, en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III y Tipo IV la hiperactividad de otros canales de cloro expresados en el asa de Henle con el fin de compensar la pérdida de cloro por orina, como el ClC-Ka y el KCl, ayudan a mantener en cierto modo la función del asa de Henle. Por lo tanto, el transporte paracelular del calcio no está tan afectado en estos pacientes, lo que explica que la frecuencia de hipercalciuria y, secundariamente de la nefrocalcinosis sea más baja en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III y Tipo IV (155). Por último, en el Síndrome de Bartter Tipo V, en la que existe un defecto transitorio del asa de Henle y del túbulo contorneado distal, la nefrocalcinosis suele ser leve o estar ausente en la mayoría de casos (74, 154).

En total, en nuestro estudio el 14% de los pacientes desarrollaron una nefrocalcinosis medular bilateral detectada mediante ecografía renal. En los estudios previos publicados sobre pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III se han mostrado resultados similares, donde se observa que entre el 10 y el 20% desarrollan nefrocalcinosis. Sin embargo, no se conoce la edad a la que se detecta por primera vez la nefrocalcinosis en la ecografía renal (163, 179, 187, 194, 195, 348). En el Síndrome de Bartter Tipo I y II, debido a la severidad del cuadro, suele estar presente prácticamente desde el primer o el segundo mes de vida (199). En nuestra cohorte de pacientes

con Síndrome de Bartter Tipo III, en 4 pacientes la nefrocalcinosis estuvo presente desde el diagnóstico entre los 6 meses y los 26 años de edad. Por el contrario, 3 pacientes, al diagnóstico de la enfermedad, momento en el que tenían entre 6 meses y 6 años de edad, tenían una ecografía normal, y desarrollaron nefrocalcinosis a lo largo de la evolución. La edad a la que apareció la nefrocalcinosis en los pacientes de nuestra cohorte fue desconocida. Sin embargo, en ningún paciente de toda la cohorte se detectó una nefrocalcinosis antes de los dos primeros meses de vida, a diferencia de lo que sucede con los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo I y II. Además, entre los 7 pacientes que desarrollaron nefrocalcinosis, el paciente en el que más precozmente se detectó tenía 6 meses de edad en ese momento. Por lo tanto, aunque no obtuvimos datos exactos, podemos observar que existe una alta variabilidad en la edad de inicio de la nefrocalcinosis en el Síndrome de Bartter Tipo III y que, en principio, la edad a la que inician el desarrollo de la nefrocalcinosis es más tardía que en los tipos antenatales I y II.

Todos los pacientes con nefrocalcinosis de nuestra cohorte presentaron un fenotipo clínico antenatal, neonatal o un fenotipo clásico, y no se hallaron diferencias significativas entre ambos fenotipos. Entre los pacientes de la cohorte que presentaron un fenotipo antenatal o neonatal el 24% desarrollaron nefrocalcinosis; en el grupo de pacientes con fenotipo clásico el 11%; y ningún paciente con fenotipo Gitelman desarrolló nefrocalcinosis. Igualmente, en estudios previos, en una serie de pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III el 29% de los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal, el 14% de los pacientes con fenotipo clásico y solamente el 3% de los pacientes con fenotipo Gitelman desarrollaron nefrocalcinosis (179). Probablemente, el grado de afectación del asa de Henle debido a la disfunción secundaria del cotransportador Na-K-2Cl NKCC2 en el Síndrome de Bartter Tipo III es mayor en los pacientes con fenotipo antenatal, neonatal o clásico, lo que explica que la prevalencia de nefrocalcinosis sea mayor en estos dos grupos. Además, los pacientes con fenotipo antenatal, neonatal o clásico suelen ser recién nacidos o lactantes y, por lo tanto, tienen menor capacidad de compensar las pérdidas de cloro en el asa de Henle debido a la inmadurez tubular. Por lo tanto, presentan mayor afectación del asa de Henle que los pacientes con fenotipo Gitelman con un riesgo mayor de desarrollar hipercalcúria y nefrocalcinosis (155). No obstante, podemos decir que la capacidad de compensación de la pérdida de cloro en el asa de Henle es variable de unos pacientes a otros, sugiriendo que algunos pacientes puedan presentar variantes alélicas en los genes que codifican estos canales compensadores. Este hecho podría explicar por qué no todos los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal de nuestra cohorte desarrollaron nefrocalcinosis. Además, cabe

destacar que, en nuestra cohorte, entre los pacientes que desarrollaron nefrocalcinosis y presentaron un fenotipo antenatal o neonatal, ninguno fue diagnosticado en el primer mes de vida a pesar de presentar un polihidramnios durante el embarazo. Por lo tanto, es posible, que, además del fenotipo severo con inicio precoz en la vida de los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal, o la variabilidad interindividual en los mecanismos de compensación, el diagnóstico tardío con exposición prolongada a los mecanismos fisiopatológicos jueguen un papel importante en el desarrollo de nefrocalcinosis del Síndrome de Bartter Tipo III.

Como se ha comentado anteriormente, la nefrocalcinosis en el Síndrome de Bartter Tipo III es secundaria a la hipercalciuria. Todos los pacientes de nuestra cohorte con nefrocalcinosis, salvo dos (SOR 48 y SOR 80), asociaban una hipercalciuria. Entre los dos pacientes con nefrocalcinosis y sin hipercalciuria, uno de ellos (SOR 80) presentaba hipocalciuria al final del estudio. Es posible que ambos hayan presentado una hipercalciuria durante algún tiempo a lo largo de la evolución. Al tratarse de un estudio donde solamente se analizan los valores analíticos en dos momentos puntuales de la enfermedad (al diagnóstico y al final del estudio), fue difícil valorar la relación entre algunos hallazgos, como es el caso de la hipercalciuria y la nefrocalcinosis.

En general, en el Síndrome de Bartter, debido a la hipercalciuria, existe un riesgo aumentado de presentar litiasis a lo largo de la evolución. En nuestra cohorte el 8% de los pacientes presentaron litiasis a lo largo de la evolución. Entre ellos, dos pacientes (SOR 5 y SOR 45) presentaron litiasis sintomáticas a lo largo de la infancia en contexto de infecciones urinarias precisando una intervención: una de ellas (SOR 45) precisó litotricia extracorpórea en una ocasión; y la otra paciente (SOR 5) presentó una litiasis coraliforme en la infancia relacionada con infecciones de orina por *Escherichia Coli* y *Proteus mirabilis* precisando dos sesiones de litotricia extracorpórea, además de una colocación de doble J por obstrucción de la vía urinaria en la edad adulta. Así mismo, ambas pacientes asociaban una hipercalciuria. La prevalencia de las litiasis en general en el Síndrome de Bartter es desconocida, aunque se estima que es menor que la prevalencia de la nefrocalcinosis. En una serie de 115 pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III el 10% de los pacientes presentaron litiasis a lo largo de la evolución (179). Sin embargo, en la mayoría de los casos publicados de Síndrome de Bartter, no se ha reportado si los pacientes presentan otros factores de riesgo para el desarrollo de litiasis. La litiasis renal afecta a un 10% de la población mundial, observándose un aumento progresivo de su

prevalencia con la edad. La litiasis en el niño es menos frecuente que en el adulto, aunque su incidencia se ha multiplicado por cinco en las últimas décadas. Se ha estimado que dicha incidencia oscila entre 0,13 y 1,52 casos por cada 1.000 admisiones hospitalarias (349). En la edad adulta, aproximadamente, el 5-12% de la población de los países industrializados presenta un episodio de litiasis antes de los 70 años de edad (350, 351).

Por otro lado, es conocida la relación entre las infecciones de orina de repetición y las litiasis. Entre el 20 y el 25% de los niños con litiasis tienen una historia de infecciones urinarias de repetición y existe una asociación entre los gérmenes ureolíticos y las litiasis coraliformes compuestos por estruvita (352-354). En nuestra cohorte, en los cuatro pacientes que presentaron litiasis a lo largo de la evolución, aparte de la hipercalciuria y las infecciones de orina, se desconocía si los pacientes tenían otros factores de riesgo que favorecían la formación de litiasis como la hipocitraturia, la hiperuricosuria, la cistinuria o la hiperoxaluria. Ningún paciente presentaba anomalías congénitas del riñón y del tracto urinario que favorecieran las litiasis, y en ningún caso se conoció la composición de los cálculos. Por lo tanto, sería interesante estudiar si los pacientes de nuestra cohorte presentaban otros factores de riesgo para el desarrollo de litiasis, aparte del Síndrome de Bartter y la hipercalciuria, así como conocer la composición de estos cálculos para poder realizar un mejor manejo y prevención en aquellos pacientes que presentan litiasis de repetición.

En nuestro estudio, el 14% de los pacientes presentaron una hiperecogenicidad del parénquima renal bilateral en la ecografía renal. La frecuencia de hiperecogenicidad renal en el Síndrome de Bartter Tipo III descrita hasta la actualidad es de alrededor del 8% (179). En nuestra cohorte, entre los pacientes que presentaron una hiperecogenicidad renal, dos pacientes asociaban una enfermedad renal crónica (SOR 9 y SOR 3), un paciente presentó una disfunción renal aguda al diagnóstico en contexto de una deshidratación severa (SOR 186), y en tres pacientes (SOR 104A, SOR 104B, SOR 163) la hiperecogenicidad cortical que presentaron al diagnóstico desapareció tras semanas de iniciar el tratamiento. Por último, en el paciente SOR 57 la hiperecogenicidad del parénquima renal bilateral estuvo presente desde el diagnóstico a los 2 años de edad, además de una nefrocalcinosis medular bilateral. Tanto el daño renal agudo al diagnóstico en contexto de deshidratación, como la fibrosis del parénquima renal secundaria al hiperaldosteronismo crónico son una causa de hiperecogenicidad renal lo que explicaría este hallazgo en nuestros pacientes (355, 356).

Así mismo, el 4% de la cohorte presentó quistes renales. Un paciente (SOR 3) al final del estudio, tras 28 años de evolución de la enfermedad, presentaba un quiste simple unilateral de 4 mm en el polo inferior del riñón izquierdo; y el otro paciente (SOR 114) al final del estudio, con 5 años de edad, presentaba quistes corticales < 1 cm en el parénquima renal. En estudios previos, la prevalencia de quistes renales en el Síndrome de Bartter Tipo III es de alrededor del 7%, hallándose sobre todo en pacientes con fenotipo clínico de presentación antenatal, neonatal y fenotipo clásico (179). La formación de quistes renales en esta enfermedad se ha relacionado a la hipokalemia secundaria al hiperaldosteronismo crónico. En otras patologías que cursan con hipokalemia, como el hiperaldosteronismo primario o la acidosis tubular renal distal, se ha observado que el 44% y el 70% de los pacientes desarrollan quistes renales, respectivamente (357-359).

Los mecanismos patogénicos precisos que subyacen a la formación de quistes renales en la hipopotasemia crónica no están claros. Se han postulado dos posibles mecanismos que incluyen el hipercrecimiento de las células renales, y la lesión intersticial causada por el aumento de la producción de amonio en el túbulo renal en esta enfermedad debido a la hipokalemia (357, 360, 361). En un estudio en ratones se observó que la hipopotasemia crónica inducía una hipertrofia e hiperplasia de las células epiteliales del túbulo colector y a una dilatación tubular debido a la obstrucción luminal por las células epiteliales hiperplásicas (360). Aunque la hipertrofia e hiperplasia de las células epiteliales del túbulo renal asociados a la hipopotasemia no se ha descrito en humanos, las lesiones tubulares como la atrofia, la destrucción y la regeneración celular, así como la nefritis intersticial se han hallado en pacientes con hipopotasemia pudiendo contribuir al desarrollo de quistes renales.

En nuestra cohorte, ambos pacientes con quistes renales presentaron un fenotipo antenatal o neonatal. La paciente SOR 114 se diagnosticó los primeros días de vida con una kalemia 2,4 mEq/l y no presentó polihidramnios durante el embarazo. Por otro lado, la paciente SOR 3, a pesar de presentar polihidramnios, se diagnosticó tardíamente a los 6 años de edad con una hipopotasemia de 1,6 mEq/l y tenía una enfermedad renal crónica además de una afectación tubular severa con un Síndrome de Fanconi (este paciente se comenta en apartado 8). En esta paciente se realizó una biopsia donde se observó una hiperplasia yuxtaglomerular típica de los pacientes con tubulopatías pierde sal con lesiones de fibrosis intersticial a nivel cortical y atrofia parenquimatosa acusada.

El fenotipo severo de inicio precoz de ambas pacientes sugiere que en ambas podría existir un hiperaldosteronismo severo que explicaría la formación de los quistes renales. No obstante, desconocíamos la kalemia que presentaron a lo largo de la evolución. Además, en la paciente SOR 114, teniendo en cuenta que a tan solo 5 años de evolución de la enfermedad presentaba quistes renales bilaterales, no podemos descartar que presentara alguna otra patología quística hereditaria, aparte del Síndrome de Bartter Tipo III. En esta paciente se desconocía si en la familia existían antecedentes de enfermedades quísticas. Por otro lado, cabe añadir que, al contrario de la paciente SOR 114, la paciente SOR 3 no presentaba quistes renales bilaterales, sino que solamente presentó un quiste simple en el polo inferior del riñón izquierdo. En general, las características de tamaño o lateralidad de los quistes renales en pacientes con Síndrome de Bartter III no están descritas. Solamente en un caso de un paciente de 6 años de edad con Síndrome de Bartter Tipo III se describen quistes renales bilaterales (362). Además, no debemos olvidar que la prevalencia de quistes simples en pacientes a partir de 30 años de edad es de alrededor del 2%, por lo que no podemos descartar que en el paciente SOR 3 el quiste simple se tratase de un hallazgo casual (363). Por lo tanto, aunque la presencia de quistes en los pacientes de nuestra cohorte podría ser secundaria a la enfermedad de base, no se pudo concluir que existiera una relación directa.

Por último, en el 4% de los pacientes se observaron malformaciones renales congénitas del riñón y del tracto urinario CAKUT (del inglés, *Congenital Anomalies of Kidney and Urinary Tract*). De ellos, un paciente presentaba hidronefrosis leve sin reflujo vesicoureteral y el otro paciente tenía un riñón en herradura sin otras complicaciones asociadas. En estudios previos, la prevalencia de estas malformaciones en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III es de alrededor del 5% (179). En la población general esta prevalencia es de entre 0,3 y 1,6 por cada 1000 recién nacidos. Es posible que la prevalencia de CAKUT en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III sea mayor que la población general porque se detecta más, teniendo en cuenta que en todos los pacientes se realiza una ecografía renal al diagnóstico con el fin de valorar la existencia de nefrocalcinosis, incluyendo en aquellos en los que el diagnóstico se realiza en la edad adulta. Además, todas las anomalías congénitas que presentaron los pacientes de nuestra cohorte fueron un hallazgo casual, ya que ninguno presentó clínica asociada. Por lo tanto, no podemos decir que los pacientes con Síndrome de Bartter tipo III tengan un riesgo mayor de desarrollar CAKUT.

7. DESARROLLO PONDEROESTATURAL EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III

El retraso ponderoestatural en el Síndrome de Bartter Tipo III, al igual que en el resto de tipos de Síndrome de Bartter, es el signo clínico más frecuente al diagnóstico de la enfermedad. Los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad son los principales factores implicados en el retraso del crecimiento. La pérdida de sal y agua por orina debido al defecto de reabsorción en el segmento grueso del asa ascendente de Henle da lugar a una sobreproducción secundaria de prostaglandina E2 y a la hiperactivación crónica del sistema renina-angiotensina-aldosterona, lo que empeora la poliuria y conlleva un estado de deshidratación crónica y un retraso del crecimiento (179, 193, 364-366). En nuestra cohorte, el 73% de los pacientes presentaron un fallo de medro, siendo el signo clínico más frecuente al diagnóstico de la enfermedad. Entre los pacientes pediátricos, en el 61% se constató un *z-score* de peso igual o menor de -2DE y en el 47% un *z-score* de talla igual o menor de -2DE. Así mismo, en las distintas series de pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, entre el 73 y el 100% de los pacientes se observa un fallo de medro, el 70% de los pacientes presentan un *z-score* de peso igual o menor de -2DE y el 53% de los pacientes presentan un *z-score* de talla menor de -2 DE (179, 189, 193). En relación al peso, la mediana del *z-score* del peso de los pacientes pediátricos de nuestra cohorte mejoró significativamente durante el seguimiento. En el 83% de los pacientes pediátricos se observó un aumento del *z-score* de peso a lo largo de la evolución, y solamente cuatro pacientes presentaron un descenso del peso. Estos últimos además de ser niños de entre 4 y 13 años, asociaban una talla baja al final del estudio, lo que podría explicar que presentaran un bajo peso. Al final del estudio, el 61% de los niños de la cohorte tenían un peso normal para la edad y el 39% un peso patológico. En un estudio previo de 13 pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III se hallaron resultados similares, donde alrededor de un 73% de los pacientes mejoran el peso y el 65% presentaron un peso normal durante el seguimiento (193). Por otro lado, en nuestra cohorte, no hallamos diferencias significativas en el peso al diagnóstico y el peso a largo plazo entre los tres grupos de fenotipo clínico de presentación. Al estudiar los factores que podrían estar relacionados con un peso bajo final, se halló que los pacientes más pequeños al diagnóstico, sobre todo lactantes, y con menor tiempo de evolución de la enfermedad presentaron un peso más bajo a lo largo de la evolución. Por lo tanto, podemos decir que, los pacientes pediátricos con Síndrome de Bartter Tipo III alcanzan un peso normal

a lo largo de la infancia siempre que reciban el tratamiento, aunque en ocasiones sea más difícil sobre todo en los niños más pequeños y en aquellos que asocian una talla baja.

En relación al peso en los adultos, el 73% de los adultos de nuestra cohorte presentaron un peso normal al diagnóstico de la enfermedad. Por el contrario, una paciente presentó un peso inferior a la normalidad, dos pacientes, ambos varones, presentaron sobrepeso; y un paciente varón era obeso. En la población general española mayor de 18 años, un 18,2% de los hombres y un 16,7% de las mujeres padecen obesidad. Respecto al sobrepeso, el 44,3% de los hombres y un 30 % de las mujeres padecen sobrepeso. En relación al peso insuficiente, la prevalencia del peso insuficiente en las mujeres de 18 a 24 años, es de un 12,7% de mujeres frente al 3,5% de hombres (367). En las series de pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III y otros tipos de Síndrome de Bartter tampoco se ha descrito que los pacientes presenten mayor prevalencia de obesidad ni de peso inferior a la normalidad (179, 193). Por el contrario, en otras tubulopatías como por ejemplo la Diabetes Insípida Nefrogénica, donde los pacientes presentan también una poliuria con una deshidratación y fallo de medro importantes desde los primeros meses de vida, se ha hallado que la prevalencia de la obesidad a largo plazo es mayor que la de la población general (325). Estos pacientes presentan una alteración de la capacidad de concentración urinaria y la poliuria depende sobre todo de la carga osmótica recibida en la dieta. Por lo tanto, estos pacientes reciben consejos de alimentación desde la edad pediátrica que se basan en conseguir una máxima ingesta calórica sin aumentar la carga osmótica con el fin de minimizar la poliuria y optimizar el crecimiento. Este hábito dietético adquirido en la edad pediátrica se ha relacionado en algunos trabajos con la obesidad en la edad adulta (368).

En el Síndrome de Bartter Tipo III, sobre todo en la edad pediátrica, se realiza especial hincapié en asegurar un aporte hídrico y calórico adecuado para optimizar el crecimiento. Sin embargo, el manejo nutricional es menos complicado, y se ha demostrado que los pacientes mejoran el estado nutricional tras reforzar la alimentación, la hidratación y tras el inicio del tratamiento habitual de la enfermedad que son el inhibidor de la secreción de la prostaglandina E2 (principal causa de poliuria y de las alteraciones hidroelectrolíticas) y la suplementación con cloruro sódico. Este hecho también se ve reflejado en que hasta el 25% de los pacientes con Diabetes Insípida Nefrogénica precisan una sonda nasogástrica o una gastrostomía para asegurar la hidratación y la nutrición. Por el contrario, en el Síndrome de Bartter, solamente en casos aislados, sobre todo en los tipos antenatales y neonatales que presentan una poliuria

importante las primeras semanas de vida, se emplean estos dispositivos para conseguir un adecuado estado nutricional (369, 370). Igualmente, en nuestra cohorte, solamente un paciente (2%) precisó botón de gastrostomía durante los primeros meses para garantizar la hidratación y la nutrición. Se trataba de un paciente que se diagnosticó a los 7 meses de edad con un fenotipo clínico de presentación de Síndrome de Bartter Clásico en contexto de un fallo de medro con una deshidratación importante (*z-score* de peso -4DE). No obstante, no se debe olvidar que en los pacientes con Síndrome de Bartter, sobre todo en los tipos antenatales, la hipersecreción de la prostaglandina E2 inhibe secundariamente la acción de la hormona antidiurética pudiendo dar lugar a una Diabetes Insípida Secundaria empeorando la poliuria. Por lo tanto, el grado de la poliuria y de la alteración de la capacidad de concentración urinaria puede variar de un paciente a otro (369, 371). Por lo tanto, dependiendo de la presentación y de la evolución de los pacientes, el uso de sonda nasogástrica o botón de gastrostomía se deberá de individualizar en cada paciente. En los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, la capacidad de concentración urinaria no suele estar alterada debido a que no existe un defecto completo de la función del asa de Henle, lo que hace que la poliuria sea menor y que el manejo de la hidratación y, por lo tanto, del estado nutricional sea menos complejo que en los tipos antenatales.

En distintos estudios, en todos los tipos de Síndrome de Bartter se ha mostrado que los pacientes mejoran la talla tras iniciar el tratamiento con antiinflamatorios no esteroideos (179, 187, 193, 234, 235). En nuestra cohorte la mediana del *z-score* de la talla de los pacientes pediátricos fue significativamente mayor al diagnóstico que al final del estudio. Al diagnóstico de la enfermedad la mitad de los pacientes pediátricos presentaron un *z-score* de talla igual o menor de -2DE. Además, al final del seguimiento, el 77% de los pacientes presentó una mejoría de la talla respecto al diagnóstico. Al final del estudio, el 72% de los pacientes presentaban una talla normal. Así mismo, al analizar la talla final de los pacientes adultos de la cohorte, se observó que el 88% tenían una talla normal respecto a la población general y solamente el 12% presentaron una talla baja. Estos últimos eran pacientes con mala adherencia terapéutica lo que podría justificar la talla baja final. Al igual que en nuestra cohorte, en distintas series donde se describe la evolución de pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, entre el 60 y el 83 % de los pacientes presentaron una talla normal tras una mediana de seguimiento de 8 y 14 años (179, 193).

En nuestra cohorte, no hallamos ninguna diferencia en la talla al diagnóstico entre los tres grupos de fenotipos clínicos de presentación. Sin embargo, se observó que los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal y fenotipo clásico presentaron una talla final significativamente menor que los pacientes con fenotipo Gitelman. En un estudio previo de 115 pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III también se observó que en los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal y fenotipo clásico el retraso de crecimiento era más frecuente (179). En nuestra cohorte, por un lado, la edad al diagnóstico, así como el tiempo de evolución de los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal y fenotipo clásico es menor que la de los pacientes con fenotipo Gitelman. Por lo tanto, este hecho podría explicar que, al contrario de los pacientes con fenotipo Gitelman, la mayoría de los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal y fenotipo clásico sean aún pacientes pediátricos al final del estudio y, por lo tanto, pacientes con potencial de crecimiento. Además, al analizar los factores que podrían estar relacionados con una talla baja al final del estudio, independientemente del fenotipo clínico de presentación, se observó que los pacientes con talla baja final tenían un tiempo de seguimiento significativamente menor que los pacientes con talla normal al final del estudio. Esto se debe probablemente a la necesidad de un mayor tiempo de tratamiento de su enfermedad en los pacientes más jóvenes para realizar un *catch-up* adecuado.

Por otro lado, en un estudio previo se ha observado que los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal y fenotipo clásico presentan un hiperaldosteronismo mayor que los pacientes con fenotipo Gitelman (179). En nuestra cohorte no obtuvimos datos de renina ni de aldosterona en plasma. Sin embargo, los pacientes con talla baja al final del estudio tenían un hipokalemia y una alcalosis metabólica más severa al diagnóstico que los pacientes con talla normal. Si consideramos que la hipokalemia y la alcalosis metabólica son un reflejo del hiperaldosteronismo crónico en el Síndrome de Bartter Tipo III, este hallazgo puede sugerir que los pacientes con un mayor hiperaldosteronismo, como es el caso de los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal y fenotipo clásico, tiene un pronóstico de talla peor. Este resultado, apoya la importancia que tiene la optimización del tratamiento ajustando las dosis de indometacina y la administración de cloruro sódico y de agua con el fin de inhibir al máximo el hiperaldosteronismo crónico, sobre todo en aquellos pacientes en los que no observemos una mejoría del crecimiento. Sin embargo, no podemos olvidar que, en nuestro estudio, al no obtener valores plasmáticos evolutivos de renina, de aldosterona, de potasio ni de bicarbonato

en plasma, no se pudo conocer con exactitud la relación entre el hiperaldosteronismo y el retraso de crecimiento.

Existen casos aislados de déficit de hormona de crecimiento en pacientes con tubulopatías como el Síndrome de Bartter, Síndrome de Gitelman y la Acidosis Tubular Renal Distal (193, 366, 372-377). Se ha demostrado que la acidosis crónica, presente en pacientes con Acidosis Tubular Renal Distal, estimula el catabolismo proteico, interfiere en la homeostasis de la hormona de crecimiento y del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1, del inglés, *Insulinic Growing Factor type 1*), induciendo a una resistencia parcial a la hormona de crecimiento, y provocando cambios en la morfología y en la dinámica del crecimiento epifisario (378-381). Sin embargo, en tubulopatías primarias que cursan con hipokalemia y con alcalosis metabólica, la fisiopatología del déficit de hormona de crecimiento es desconocida. Algunos trabajos experimentales en roedores han mostrado que la hipokalemia podría tener un efecto negativo sobre la hipófisis, ya que al disminuir los aportes de potasio en la dieta, presentan niveles bajos de hormona de crecimiento y del IGF-1 en el suero (364). Otros estudios han mostrado que la hipokalemia podría alterar el metabolismo de la hormona de crecimiento y del IGF-1 en distintos tejidos como el músculo, y que incluso podría generar una resistencia de los receptores de hormona de crecimiento en el hígado (201). Algunos autores sugieren que la hipokalemia puede estar relacionada con una respuesta parcial al tratamiento con hormona de crecimiento en el Síndrome de Bartter. En este sentido, opinan que mientras no se corrija la kalemia, el tratamiento con hormona de crecimiento no será eficaz (382). Además, se ha observado que en los pacientes con Síndrome de Bartter en los que se ha empleado la hormona de crecimiento existe una aceleración de la velocidad de crecimiento tras el inicio del tratamiento, aunque muchos de ellos permanecen con un *z-score* de talla < -2 DE (179, 193). Así mismo, se ha descrito algún caso aislado en el que se observa una mejoría del crecimiento tras la mejoría de la alcalosis metabólica, así como una mejoría de la respuesta a la hormona de crecimiento tras el inicio de la indometacina sugiriendo que la alcalosis metabólica y el aumento de prostaglandina E2 en el Síndrome de Bartter Tipo III podrían estar relacionados con el retraso de crecimiento (195, 245). En nuestra cohorte, ningún paciente recibió tratamiento con hormona de crecimiento, y se desconoce si se realizó el estudio del eje de la hormona de crecimiento. Sin embargo, cabe recordar que, si bien la mayoría de los pacientes presentan una talla normal al final del estudio, un 28% de la cohorte tenían una talla patológica a largo plazo. Aunque se cree que las alteraciones hidroelectrolíticas son la principal

causa del retraso de crecimiento, sería recomendable realizar el estudio del eje de la hormona de crecimiento, sobre todo en aquellos que no mejora el crecimiento a pesar del tratamiento, de cara a individualizar si podrían beneficiarse del tratamiento con la hormona.

Por otro lado, la enfermedad renal crónica y otros factores asociados a ella, como la desnutrición, el déficit de vitamina D y/o la toxicidad por fármacos, pueden justificar un retraso en el crecimiento en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III. Sin embargo, en nuestra cohorte no se encontró una relación entre la enfermedad renal crónica y la talla patológica. Al igual que sucede en otras series, solamente un 8% de los pacientes con talla patológica al final del estudio presentaban un deterioro crónico de la función renal (179, 193). Así mismo, aunque la prematuridad es un factor de riesgo importante para el retraso de crecimiento en la infancia, en nuestra cohorte no se halló ninguna relación entre la prematuridad y el crecimiento. No se debe olvidar, que, en nuestra cohorte, la mayoría de los recién nacidos prematuros eran prematuros tardíos (34-37 semanas de gestación), por lo que es posible que no juegue un papel tan importante en el retraso de crecimiento de los Síndrome de Bartter Tipo III, como puede ocurrir en los pacientes con tipos antenatales de Síndrome de Bartter donde la prevalencia de prematuros menores de 34 semanas de gestación es mayor. No obstante, a pesar de los resultados de nuestra cohorte, no podemos descartar que, entre otros factores, la enfermedad renal crónica y la prematuridad sean, en cierto modo, factores contribuyentes en la talla final de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III.

Finalmente, cabe recalcar la importancia de conocer la adherencia terapéutica de los pacientes a la hora de valorar el crecimiento. Aunque este aspecto no se pudo medir en nuestra cohorte, en cinco pacientes se registró que presentaban mala adherencia terapéutica. Dos de ellos (SOR 90 y SOR 123) eran pacientes pediátricos al final del estudio que tenían 8 y 11 años de edad y un *z-score* de talla igual o menor de -2DE al final del estudio. Los otros dos (SOR 23 y SOR 129) eran adultos de 22 y 27 años con una talla final por debajo de la población general. El quinto paciente (SOR 51) se diagnosticó en la edad adulta y tenía una talla normal con respecto a la población general. El incumplimiento terapéutico de los cuatro pacientes es un ejemplo del beneficio del tratamiento con la indometacina en el crecimiento de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III. En este aspecto, sería importante implementar sistemas de control de adherencia terapéutica durante la edad adulta y, sobre todo en la infancia por ser el periodo de mayor fragilidad y mayor potencial de crecimiento.

8. LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III

En todos los tipos de Síndrome de Bartter se han descrito pacientes que desarrollan un deterioro crónico de la función renal. Globalmente, aunque existe una amplia variabilidad en el pronóstico renal, los tipos I y IV se considera que presentan un deterioro renal más precoz y más rápido en comparación con los tipos II y III (179, 199, 383, 384). En el Síndrome de Bartter Tipo V, al tratarse de una forma transitoria de Síndrome de Bartter, no se han descrito hasta la actualidad casos de enfermedad renal crónica (74, 154). En Síndrome de Bartter Tipo III, a pesar de que clásicamente se ha considerado un tipo menos severo con presentación más tardía en la infancia en comparación con los tipos antenatales, entre un 10 y un 30% de los pacientes desarrollan enfermedad renal crónica (ERC) a largo plazo (179, 193-195). Así mismo, en nuestra cohorte, 11 (22%) pacientes presentaron un deterioro crónico de la función renal a lo largo de la evolución de la enfermedad.

Entre los pacientes con una ERC a largo plazo, el 6% presentaban una ERC grado II, el 10% una ERC grado III y el 4% una ERC grado IV. Un paciente se encontraba en hemodiálisis crónica desde los 48 años de edad. En la serie de 115 pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III descrita por Seys y colaboradores, tras una mediana de tiempo de evolución de 15 (1-56) años, el 25% de los pacientes presentaron una enfermedad renal crónica y, entre ellos, el 13% tenía una ERC grado II, el 3% presentaron un grado III, el 1% un grado IV y el 8% un grado V (179). Los resultados fueron similares a los de nuestra cohorte, sugiriendo que el pronóstico renal a largo plazo de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III es peor de lo que sugerían los estudios iniciales.

Globalmente, se considera que la etiología de la ERC en el Síndrome de Bartter Tipo III es multifactorial. Tanto los mecanismos fisiopatológicos, la prematuridad, el tratamiento crónico como el genotipo pueden estar relacionados con el pronóstico renal. La poliuria, la polidipsia y la disminución de la capacidad de concentración urinaria asociados a una contracción crónica del espacio extracelular son síntomas clásicos de algunas tubulopatías primarias, como, por ejemplo, el Síndrome de Bartter, el Síndrome de Gitelman o la Diabetes Insípida Nefrogénica. Como consecuencia de ello, estos pacientes son susceptibles de presentar episodios agudos de

descompensación con deterioro agudo de la función renal por deshidratación en contexto de intercorrientes infecciosas, lo que contribuye al empeoramiento de la función renal a largo plazo (70, 163, 187, 258, 311, 385, 386). En nuestra cohorte, el número de pacientes que precisaron ingresos por descompensaciones agudas en el grupo de pacientes con ERC no fue mayor respecto al grupo con función renal normal. Sin embargo, el grado de severidad del deterioro agudo de la función renal durante las descompensaciones fue desconocido, por lo que fue difícil valorar la repercusión que tuvieron estos episodios en la función renal a largo plazo. Así mismo, el hecho de que el Síndrome de Bartter Tipo III sea una enfermedad cada vez más conocida, hace que el diagnóstico se realice de manera más precoz por lo que es más improbable que existan descompensaciones agudas severas de deshidratación y alteraciones electrolíticas que conlleven una afectación renal aguda grave.

Por otro lado, la depleción crónica de potasio se ha asociado al desarrollo de ERC en distintas patologías como la diarrea crónica, los trastornos alimentarios, el abuso de laxantes, el hiperaldosteronismo primario (Síndrome de Conn) o algunas tubulopatías primarias (357, 387-390). No obstante, a pesar de la asociación conocida entre la hipokalemia crónica y la ERC, se ha observado que patologías distintas que cursan con el mismo grado de hipokalemia no presentan el mismo pronóstico renal. Por ejemplo, en un estudio donde se compara la kalemia entre pacientes con Síndrome de Bartter y Síndrome de Gitelman, se observó que no existían diferencias en la severidad de la hipokalemia entre ambas patologías, y tampoco se observó ninguna correlación entre la función renal y los niveles de potasio en plasma. Sin embargo, los pacientes con Síndrome de Bartter presentaron un filtrado glomerular más bajo, un sodio en orina más alto, así como unos niveles de renina y aldosterona más altos que los pacientes con Síndrome de Gitelman, sugiriendo que más que la hipokalemia, es el hiperaldosteronismo lo que da lugar a un deterioro crónico de la función renal (270).

La aldosterona es una hormona involucrada en el remodelado vascular, en la función endotelial y en la formación de colágeno, contribuyendo a la fibrosis del glomérulo y del intersticio, por lo que podría explicar que en el Síndrome de Bartter la evolución hacia una ERC sea más frecuente que en el Síndrome de Gitelman (267-269, 356). En nuestra cohorte, aunque no se obtuvieron valores de renina y aldosterona en plasma, los pacientes que presentaron una ERC a largo plazo, presentaron una hipokalemia y una alcalosis metabólica significativamente más severas al diagnóstico que los pacientes con función renal normal, sugiriendo que tenían un

hiperaldosteronismo mayor. Además, aunque no se hallaron diferencias significativas en el porcentaje de pacientes que desarrollan ERC a largo plazo entre los tres fenotipos clínicos de presentación, globalmente, se observó que entre los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal la prevalencia de ERC fue mayor que entre los pacientes con fenotipo clásico y los pacientes con fenotipo Gitelman. En la serie de pacientes publicada por Seys y colaboradores los resultados fueron similares: entre los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal, fenotipo clásico y fenotipo Gitelman el 23%, el 14% y el 13% de los pacientes desarrollaron ERC, respectivamente (179). Así mismo, en esta serie se halló una hiperreninemia y un hiperaldosteronismo mayor en los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal que en los fenotipos clásicos y Gitelman, sugiriendo que estos pacientes mantienen un hiperaldosteronismo mayor con un estado de deshidratación crónico a lo largo de la evolución, lo que conlleva un deterioro crónico de la función renal. No obstante, sería necesario analizar los valores de renina y aldosterona plasmáticas evolutivos en estos pacientes para poder obtener argumentos más precisos en este aspecto. Además, teniendo en cuenta que en los tres grupos de fenotipos clínicos existen pacientes que evolucionan hacia una ERC a largo plazo, no podemos considerar que el hiperaldosteronismo sea el único factor relacionado con el mal pronóstico renal en el Síndrome de Bartter Tipo III.

En nuestra cohorte, la mediana de edad al diagnóstico de los pacientes con deterioro crónico renal fue significativamente mayor que la de los pacientes con función renal normal. Además, mientras que el 60% de los pacientes con ERC son pacientes diagnosticados previamente al año 2000, solamente el 10% de los pacientes con función renal normal a largo plazo son diagnósticos previos al año 2000, siendo estas diferencias significativas. Como se ha comentado previamente en la discusión, el desarrollo de la genética molecular a partir de la década de los 90 ha permitido un mejor conocimiento de la enfermedad facilitando el diagnóstico precoz y, por lo tanto, el inicio precoz tratamiento. Todo ello explica porqué los pacientes con ERC de nuestra cohorte se diagnosticaron más tarde. El diagnóstico tardío de la enfermedad conlleva una exposición prolongada a la hiperactivación del sistema renina-angiotensina-aldosterona sugiriendo que podría ser el motivo de que algunos pacientes de nuestra cohorte presentaran desde el momento diagnóstico un deterioro crónico de la función renal (SOR 3, SOR 5, SOR 9, SOR 115).

Sin embargo, otros pacientes de nuestra cohorte, a pesar de diagnosticarse a una edad temprana presentaron un deterioro crónico de la función renal a largo plazo. Es el caso de los pacientes SOR 54A, SOR 54C, SOR 123 que, a pesar de que se diagnosticaron en el periodo de lactante con un fenotipo clásico, tenían una disminución del filtrado glomerular a los 31, 23 y 10 años de edad respectivamente. Por lo tanto, aunque el hiperaldosteronismo y el diagnóstico tardío puedan ser factores relacionados con el pronóstico renal en el Síndrome de Bartter Tipo III, probablemente coexistan otros factores que contribuyan también en la evolución de la función renal a largo plazo. Un ejemplo podría ser el paciente SOR 51 que, además de diagnosticarse en la edad adulta, a los 25 años de edad, presentó una parada cardiorrespiratoria asociado a una rbdomiolisis encontrándose en programa de hemodiálisis crónica a los 48 años de edad. En este caso la isquemia renal debido a la presentación clínica tan severa probablemente haya contribuido a un peor pronóstico renal.

Además de la fibrosis a nivel glomerular e intersticial, que pueda asociarse al hiperaldosteronismo crónico, algunos estudios han mostrado que la propia hipokalemia puede dar lugar a un daño tubular. En un estudio se observó que alrededor de un 50% de los pacientes con hipokalemia crónica presentan un aumento de proteinuria tubular beta-2 microglobulina sugiriendo un daño tubular (391). A nivel anatomopatológico, se han observado casos con nefritis tubulointersticial con infiltrado mononuclear y atrofia cortical y, en ocasiones, quistes sobre todo en la zona medular renal en pacientes con hipokalemia. Aunque el mecanismo exacto por el cual la hipokalemia induce nefropatía es desconocido, se cree que el daño microvascular y la pérdida de mediadores vasoactivos dan lugar a una hipoxia intrarenal siendo el responsable de la nefritis tubulointersticial. A pesar de revertir la hipokalemia, aunque algunos quistes pueden desaparecer y disminuir de tamaño, generalmente las lesiones no son reversibles y pueden resultar en el desarrollo de una ERC a largo plazo (357, 392-395).

Por otro lado, hay estudios que demuestran que existen lesiones degenerativas sobre todo en células epiteliales del túbulo proximal con vacuolizaciones en su interior en pacientes con hipokalemia (396-398). En relación a la alteración del túbulo proximal secundaria a la hipokalemia crónica, en nuestra cohorte, la paciente SOR 3 a pesar de presentar un fenotipo antenatal con polihidramnios, fue diagnosticada a los 6 años de edad en contexto de un fallo de medro con una hipopotasemia (2,6 mEq/l) y una alcalosis metabólica (bicarbonato 27 mEq/l) con un cloro y un sodio normal en plasma. Presentó, además, un Síndrome de Fanconi

secundario con hipofosfatemia (3 mg/dl) y fosfaturia elevada, glucosuria, aminoaciduria, proteinuria de predominio tubular, además de una hipercalciuria, una hipocitraturia y un deterioro crónico de la función renal (filtrado glomerular estimado de 85 ml/min/1,173m²). El síndrome de Fanconi se resolvió a los 3 meses de iniciar el tratamiento, persistiendo la hipokalemia, la alcalosis metabólica y la ERC. Si bien no se observó una acidosis metabólica típica de la afectación del túbulo proximal, tampoco presentó unas cifras de bicarbonato muy elevadas teniendo en cuenta el tiempo de evolución que presentaba la paciente. Además, tanto la hipocitraturia como la hipercalciuria explicarían una tendencia hacia la acidosis metabólica en esta paciente (399).

En la literatura existen casos aislados de pacientes con tubulopatías primarias que presentan como manifestación inicial un Síndrome de Fanconi transitorio, y en todos ellos se han observado en la anatomía patológica lesiones en el túbulo renal secundarias a una hipokalemia crónica. Por ejemplo, una paciente con poliuria y polidipsia desde el periodo neonatal fue diagnosticada clínica y molecularmente a los 6 años de edad de Síndrome de Gitelman en contexto de vómitos y astenia presentando un Síndrome de Fanconi. Esta paciente presentó signos bioquímicos característicos de un Síndrome de Gitelman con hipopotasemia e hipomagnesemia, asociando además una hiponatremia, hipofosforemia, hipouricemia y una acidosis metabólica revelando una afectación del túbulo proximal. La función renal en este caso fue normal y las alteraciones bioquímicas se corrigieron a las 3 semanas de iniciar el tratamiento, salvo la hipokalemia y la hipomagnesemia observando además en ese momento una alcalosis metabólica y una hipocalciuria (400). Igualmente, existen casos de Acidosis Tubular Renal Distal que presentaron una disfunción tubular proximal transitoria al diagnóstico que se resolvió alrededor de un mes tras el inicio del tratamiento (400-402). Por último, existe un caso en la literatura de un paciente con Síndrome de Bartter Clásico diagnosticado a los 5 años de edad que presentó un Síndrome de Fanconi transitorio (403). En nuestra paciente (SOR 3), que presentó un Síndrome de Fanconi transitorio al diagnóstico del Síndrome de Bartter Tipo III, se realizó una biopsia renal que mostró una marcada fibrosis intersticial a nivel cortical con marcada atrofia parenquimatosa. Además, la mayoría de los glomérulos estaban atróficos y esclerosados y existía una hiperplasia a nivel yuxtaglomerular. A nivel medular existía una fibrosis importante. En esta paciente, aunque no se describen lesiones en el túbulo proximal, podemos decir que los hallazgos anatomopatológicos están en correlación con la hipokalemia

crónica y con hiperaldosteronismo crónico debido al diagnóstico tardío, explicando el deterioro crónico de la función renal que presentaba en el momento diagnóstico a los 6 años de edad.

En nuestra cohorte, 5 pacientes presentaron proteinuria glomerular al final del estudio. En todos ellos la proteinuria estuvo debajo del rango nefrótico y presentaban una ERC igual o mayor a grado III. Existen casos aislados de tubulopatías pierde sal como el Síndrome de Bartter o Síndrome de Gitelman que asocian patología glomerular. En estos casos, en la anatomía patológica se han observado lesiones de hiper celularidad mesangial y lesiones de glomeruloesclerosis focal y segmentaria (193, 404, 405). Por otro lado, también se ha demostrado que la hiperestimulación crónica del sistema renina-angiotensina-aldosterona da lugar a un aumento de síntesis y acumulación de colágeno y fibronectina en el glomérulo e intersticio, lo que se ha relacionado con la proteinuria y el deterioro renal en las tubulopatías pierde sal (268, 356, 406, 407). En nuestro estudio, la proteinuria de los pacientes se relacionó con la adaptación renal de la pérdida salina por orina, y con la estimulación crónica del sistema renina-angiotensina-aldosterona, ya que ningún paciente presentó una proteinuria severa ni signos clínicos o analíticos de síndrome nefrótico como para suponer que asociaban una patología glomerular.

Como se ha comentado anteriormente, la alcalosis hipokalémica en el Síndrome de Bartter Tipo III es secundaria a la acción de la aldosterona en el túbulo colector. Por lo tanto, el uso de fármacos que inhiben el sistema renina-angiotensina-aldosterona como los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECAs) y los diuréticos ahorradores de potasio también llamados antagonistas de la aldosterona (eplerrenona o espironolactona) se han empleado en el Síndrome de Bartter Tipo III, con el objetivo de mejorar las anomalías electrolíticas secundarias al hiperaldosteronismo crónico (179, 242, 243, 270).

Por otro lado, es conocido el efecto nefroprotector y antiproteinúrico de estos fármacos, con el fin de retrasar o enlentecer la fibrosis y el deterioro de la función renal en pacientes con ERC, en el contexto de una nefropatía diabética y otras nefropatías primarias (408). En nuestra cohorte, el 4% de los pacientes recibían IECAS y el 27% pacientes recibían espironolactona como antagonista de la aldosterona o como diurético ahorrador de potasio al diagnóstico de la enfermedad. Entre ellos, solamente un paciente se encontraba en situación de ERC sin proteinuria. Por lo tanto, mientras que en este paciente se consideró que se pauteó la

espironolactona como protector renal, en el resto de pacientes se consideró que los diuréticos ahorradores de potasio o los IECAs se emplearon probablemente para mejorar la kalemia. Al final del estudio, el porcentaje de pacientes que recibían antagonistas de la aldosterona aumentó significativamente, y entre ellos, un cuarto se encontraban en situación de enfermedad renal crónica con un filtrado glomerular de entre 44 y 70 ml/min/1,73m² mientras que en el resto la función renal era normal. Así mismo, el número de pacientes que recibían IECAs también aumentó significativamente, entre ellos, dos se encontraban en situación de ERC grado II sin proteinuria, y un paciente tenía una ERC grado III asociado a una proteinuria. El resto de pacientes que recibían IECAs tenían una función renal normal y sin proteinuria.

Por lo tanto, aunque desconocemos la causa exacta por la que se prescribieron estos fármacos, creemos que tanto los diuréticos ahorradores de potasio, como los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, se emplearon de manera individualizada en cada caso para mejorar las alteraciones hidroelectrolíticas y/o como protector renal. Sin embargo, hay que tener en cuenta que, si bien estos fármacos pueden considerarse como una alternativa en el Síndrome de Bartter, también inhiben el principal mecanismo de compensación de la pérdida de sodio a nivel del túbulo colector, empeorando así la natriuria y aumentando el riesgo de hipovolemia severa. Por lo tanto, su prescripción debe ser valorado de manera individual en cada paciente y emplearlos sobre todo en aquellos pacientes que, a pesar del tratamiento con indometacina y suplementos orales de potasio, presenten síntomas asociados a alteraciones electrolíticas graves como parálisis o arritmias cardíacas (245).

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) constituyen el pilar principal de tratamiento en el Síndrome de Bartter Tipo III. Una de las complicaciones de los AINEs no selectivos de la enzima ciclooxigenasa, como la indometacina y el ibuprofeno, es su nefrotoxicidad. Estos fármacos favorecen la vasoconstricción a nivel del glomérulo secundaria a la inhibición de la secreción de la prostaglandina E2 dando lugar a una necrosis tubular por toxicidad directa, o una nefritis tubulointersticial (409-412). Además, el riesgo de nefrotoxicidad aumenta cuando se administran en situaciones de hipovolemia (413). La exposición crónica a dosis altas de AINEs se ha asociado al desarrollo de ERC y proteinuria en patologías en los que se ha empleado este fármaco de manera crónica y a dosis altas, como por ejemplo, para tratar el dolor en las patologías reumatológicas (238, 271-273, 414). Sin embargo, en el Síndrome de Bartter Tipo III, por lo general, la dosis empleada es menor que en las patologías reumáticas, y no se

han demostrado lesiones en la biopsia renal en pacientes que han recibido indometacina de forma crónica a las dosis recomendadas de entre 0 y 4 mg/kg/día (162, 239). Además, hay casos de pacientes con Síndrome de Bartter que a pesar de no haber recibido AINEs desarrollan disfunción renal a largo plazo (266, 415).

En nuestro trabajo todos los pacientes recibían indometacina, pero la dosis de los pacientes con ERC fue mayor que la de los pacientes con función renal normal. Sin embargo, en ambos grupos la dosis administrada era correcta, ya que todos los pacientes de la cohorte salvo uno (SOR 129) recibían una dosis de indometacina igual o menor de 3 mg/kg/día. El paciente SOR 129 recibía 4,5 mg/kg/día de indometacina al final del estudio y su función renal era normal. Además, como hemos comentado previamente, algunos pacientes tenían una ERC desde el diagnóstico, antes de iniciar el tratamiento con indometacina. Por lo tanto, aunque probablemente sea un factor que contribuya en el pronóstico renal, no se puede considerar actualmente que el uso crónico de AINEs sea un factor de riesgo determinante para el desarrollo de ERC, sobre todo teniendo en cuenta sus beneficios en otros aspectos de la enfermedad. Sin embargo, se debe tener en cuenta que, en algunas circunstancias, los efectos secundarios pueden superar a los beneficios, por lo que siempre deberá individualizarse en cada paciente la necesidad, la dosis y el momento en el que se inician los AINEs, asegurándose de que el paciente no se encuentra en un momento de hipovolemia importante como suele observarse al diagnóstico de la enfermedad. El resto de aspectos sobre el uso AINEs en el Síndrome de Bartter Tipo III se discuten en el apartado 9 de la discusión.

La nefrocalcinosis es un hallazgo frecuente en muchas tubulopatías primarias. Aunque se ha relacionado con el desarrollo de ERC en muchas de ellas, se ha observado que la evolución es muy variable e independiente de la severidad de la nefrocalcinosis (222, 416, 417). Por ejemplo, en la acidosis tubular renal prácticamente todos los pacientes presentan nefrocalcinosis, y un 30-80% de los pacientes desarrollan ERC a lo largo de la vida (385, 418). En el Síndrome de Bartter, aunque también se ha considerado que la nefrocalcinosis podría estar relacionada con el desarrollo de ERC, hasta la actualidad en ningún trabajo se ha hallado una relación causal directa. Además, no todos los pacientes con Síndrome de Bartter y nefrocalcinosis evolucionan hacia una ERC (179, 193, 195). En nuestra cohorte, no se halló una relación significativa entre la nefrocalcinosis y la ERC. Además, entre los 11 pacientes que desarrollan ERC a lo largo de la evolución de la enfermedad, solamente tres asociaban una nefrocalcinosis bilateral. Al

contrario, 4 pacientes de la cohorte con nefrocalcinosis mantuvieron una función renal normal a lo largo de la evolución. Por lo tanto, la nefrocalcinosis podría ser un factor adyuvante para desarrollar ERC a largo plazo, pero no se puede considerar como único factor determinante de ERC en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III.

Por otro lado, no se debe olvidar que la paciente SOR 5 de nuestra cohorte, presentó una litiasis coraliforme bilateral en la infancia en contexto de infecciones urinarias, precisando varias sesiones de litotricia extracorpórea además de un episodio de obstrucción de la vía urinaria a los 30 años de vida. Esta paciente presentó un fenotipo antenatal con polihidramnios y se diagnosticó a los 3 años de edad en contexto de una pielonefritis aguda, fallo de medro y vómitos. Además, desarrolló una ERC a los 24 años de edad. Las litiasis coraliformes suponen alrededor del 19% de las litiasis en la infancia (419). El manejo de la litiasis coraliforme en los niños supone un desafío para la urología infantil debido a la dificultad de la realización de litotricias extracorpóreas en riñones que aún se encuentran en periodo de crecimiento. Aunque, la litotricia extracorpórea se ha considerado una técnica segura, la realización de varias sesiones además de las complicaciones postoperatorias como la obstrucción o los hematomas perirrenales no dejan de ser factores añadidos para el desarrollo de una ERC (420, 421). Por lo tanto, en nuestra paciente, probablemente, aparte del Síndrome de Bartter, las litiasis coraliformes y las sesiones de litotricia extracorpórea, así como los episodios de obstrucción de la vía urinaria hayan sido factores contribuyentes en el desarrollo del deterioro de la función renal a largo plazo.

En nuestra serie, el paciente SOR 51 estaba en programa de hemodiálisis crónica, y ningún paciente estaba trasplantado de riñón. Existen casos aislados de pacientes con Síndrome de Bartter trasplantados, y en la mayoría de ellos la evolución es satisfactoria sin recurrencia de la proteinuria ni de las lesiones de glomeruloesclerosis focal y segmentaria (262, 264). Por lo tanto, podemos decir que los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III que evolucionan hacia una ERC avanzada son candidatos a recibir un trasplante renal presentando un pronóstico similar al de otros pacientes que reciben un trasplante por otras causas.

Numerosos estudios demuestran que los recién nacidos pretérminos o de bajo peso al nacer son una población de riesgo para el desarrollo ciertas enfermedades en la edad adulta como la enfermedad renal crónica, la diabetes mellitus o la cardiopatía isquémica (422-424). Por un

lado, Brenner describió las consecuencias que puede tener la detención prematura de la nefrogénesis, que finaliza de manera fisiológica en la semana 36 de gestación, en el desarrollo de ERC en la edad adulta (425). Por otro lado, Barker, con su teoría de la “programación fetal”, relacionó el bajo peso al nacer como expresión de un ambiente intrauterino desfavorable con la tendencia a padecer enfermedades en la edad adulta (275). En los pacientes con tipos antenatales de Síndrome de Bartter, el desarrollo de la ERC se ha relacionado, en parte, con la prematuridad de los pacientes (199). Sin embargo, en nuestra cohorte de pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, no hallamos una relación significativa entre la prematuridad y el desarrollo de ERC. La baja prevalencia de la prematuridad, así como el hecho de que los pacientes prematuros de nuestra cohorte fueran prematuros tardíos nos hizo considerar que la prematuridad no fue un factor único determinante en el deterioro de la función renal a largo plazo en nuestros pacientes.

9. EL TRATAMIENTO CON ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS Y SUS COMPLICACIONES EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III

En relación al polihidramnios y sus complicaciones en el embarazo, fundamentalmente el parto prematuro, se han considerado distintas estrategias terapéuticas con el fin de inhibir la poliuria fetal, disminuyendo así la cantidad de líquido amniótico y prolongando el embarazo. Por un lado, existen muy pocos datos sobre el beneficio que aportan los amniodrenajes seriados teniendo en cuenta que es un procedimiento que conlleva complicaciones severas, incluyendo al aborto y la prematuridad (227, 228). Por otro lado, aunque el tratamiento materno con antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) durante el embarazo se ha empleado con éxito en algunos casos por otras causas, puede asociar riesgos importantes como el cierre del conducto arterioso, la perforación intestinal en el neonato o la enterocolitis necrotizante (229). En el Síndrome de Bartter, existen casos aislados en los que se ha empleado el amniodrenaje seriado y/o los AINEs con éxito, todos ellos eran tipos antenatales (224-226). En nuestra cohorte de pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, en ningún caso se empleó ninguno de estos tratamientos prenatales y no se observaron grandes complicaciones asociadas a la presencia del polihidramnios. Este hecho probablemente está relacionado con el fenotipo más leve del Síndrome de Bartter Tipo III en contraste con los tipos antenatales de la enfermedad. Por lo tanto, aunque es necesario un control estricto del polihidramnios durante el embarazo,

probablemente en la mayoría de casos de Síndrome de Bartter Tipo III no es necesario tomar medidas extraordinarias durante el periodo prenatal. En los casos en los que fuera necesario, debido a la ausencia de consenso, es indispensable tomar la decisión tras la realización de reuniones multidisciplinarias entre ginecólogos, neonatólogos, cardiólogos y nefrólogos pediátricos.

La prescripción de AINEs por su efecto antiproglandínico a los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III en el periodo postnatal es uno de los pilares fundamentales del tratamiento, ya que ha demostrado que disminuye la poliuria, mejora las anomalías hidroelectrolíticas y, por lo tanto, favorece el crecimiento adecuado de estos pacientes. Así mismo, es un tratamiento que se ha empleado también en otras tubulopatías pierde sal como el Síndrome de Gitelman o Diabetes Insípida Nefrogénica con buenos resultados (233, 235, 426, 427).

Los principales AINEs empleados son la indometacina, el ibuprofeno y el celecoxib. Mientras que los dos primeros inhiben de manera no selectiva tanto la enzima ciclooxigenasa tipo 1 (COX1) como la ciclooxigenasa tipo 2 (COX2), el celecoxib es un inhibidor selectivo de la COX2. La enzima COX1 se expresa de manera estable en distintos órganos, entre ellos, el riñón y la mucosa gastrointestinal, y participa en la producción de prostaglandinas que intervienen en procesos fisiológicos, como, por ejemplo, la protección del epitelio gástrico o el mantenimiento del flujo renal. Por el contrario, la enzima COX2 se expresa solamente en los lugares inflamados generando prostaglandinas mediadoras de la inflamación y el dolor. Por lo tanto, la inhibición de la enzima COX1, en el caso del uso de AINEs no selectivos, se asocia a efectos secundarios principalmente gastrointestinales como la úlcera o sangrado gástrico, la enterocolitis necrotizante en el recién nacido o la perforación intestinal. Así mismo, también se asocia a efectos secundarios renales, aunque esto no ha demostrado en las tubulopatías pierde sal donde las dosis que se emplean por lo general son bajas.

Los efectos nefrotóxicos de los AINEs no selectivos se han comentado previamente en la discusión (apartado 8). El riesgo de los efectos gastrointestinales de los AINEs no selectivos es dosis-dependiente y se da sobre todo en tratamientos prolongados, incluso en pacientes con distintos tipos de Síndrome de Bartter (195, 231, 236, 428). Hasta el 50% de los pacientes que toman AINEs no selectivos de manera crónica refieren dolor de estómago, vómitos o diarrea, y un tercio de los pacientes presentan una úlcera gástrica o gastritis crónica en algún momento

de la evolución (235). En nuestra cohorte todos los pacientes recibieron indometacina, y solamente el 60% recibían un protector gástrico. El 14% de los pacientes de la cohorte referían síntomas intestinales y todos ellos recibían AINEs. Un paciente presentó una úlcera duodenal y otro una gastritis crónica; aunque ambos recibían un protector gástrico en el momento de las alteraciones gastrointestinales, no lo recibían al diagnóstico de la enfermedad. En el resto de pacientes con síntomas gastrointestinales se desconocía si se realizó alguna exploración endoscópica, por lo que es posible que el porcentaje de pacientes que presentaron úlceras o lesiones gastrointestinales fuera superior a la descrita. Por lo tanto, teniendo en cuenta los efectos secundarios gastrointestinales de los AINEs no selectivos, y el beneficio que aporta en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, es recomendable además de prescribir una dosis adecuada del fármaco, asociar a un protector gástrico en todos los pacientes.

Por otro lado, se han empleado AINEs inhibidores selectivos de la enzima COX2 en el Síndrome de Bartter con éxito (242). En nuestra cohorte, ningún paciente recibió ningún AINE de este tipo. Aunque con este grupo de fármacos el riesgo de efectos secundarios gastrointestinales es mucho menor, algunos fármacos como el rofecoxib presentan un riesgo aumentado de eventos cardiovasculares. Entre todos, el celecoxib ha demostrado ser el más seguro en este sentido (240). Actualmente se desconoce el grado de riesgo cardiovascular que existe con el empleo de los inhibidores selectivos de la enzima COX2 en el Síndrome de Bartter Tipo III, aunque se ha demostrado que los pacientes que reciben rofecoxib presentan una tensión arterial más alta en comparación con los pacientes que reciben indometacina (429, 430). Por otro lado, este fármaco también se ha empleado en pacientes pediátricos con artritis crónica juvenil observando menos efectos secundarios en comparación con el naproxeno (241). Por lo tanto, actualmente no existe una recomendación específica sobre el empleo de un tipo u otros de AINES en el Síndrome de Bartter. y se deben tener en cuenta los riesgos específicos de cada fármaco e individualizar su uso en cada paciente. En nuestra cohorte es probable que no se hayan empleado los inhibidores de la enzima COX2 en ningún paciente por el riesgo de eventos cardiovasculares y por la menor experiencia, sobre todo en los pacientes pediátricos.

10. CARACTERÍSTICAS MOLECULARES EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III

Las primeras variantes en el gen *CLCNKB* se describieron en el año 1997. En un estudio de 17 pacientes con clínica de Síndrome de Bartter que no presentaban variantes en el gen *SLC12A1* (Síndrome de Bartter Tipo I) ni en el gen *KCNJI* (Síndrome de Bartter Tipo II), descubrieron que presentaban variantes en el gen que codifica el canal del cloro ClC-Kb (gen *CLCNKB*) no descrito hasta el momento. De esta manera, a esta nueva patología se le denominó Síndrome de Bartter Tipo III. Las variantes más frecuentemente halladas en estos pacientes fueron las grandes deleciones en homocigosis (53%) seguido por las variantes *missense* en 41% pacientes (24 % en homocigosis, y 17 % en heterocigosis compuesta con una variante tipo *splicing* o una *nonsense*) (70). Así mismo, en el año 2000 Konrad y colaboradores estudiaron a 30 pacientes observando una alta frecuencia de grandes deleciones en el gen *CLCNKB* (187). Actualmente existen al menos 187 variantes en la base de datos HGMD [*Human Gene Mutation Database* - www.hgmd.cf.ac.uk], siendo la mayoría de tipo *missense* seguido, en orden, por las grandes deleciones, las pequeñas deleciones y las de tipo *splicing*. En nuestra cohorte, se hallaron 14 variantes diferentes: el 50% eran variantes *missense*, el 29% eran variantes *frameshift*, el 7% eran pequeñas deleciones, el 7% eran grandes deleciones y el 7% eran variantes *nonsense*. Así mismo, en un trabajo donde se describen 115 pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III se hallaron 60 variantes distintas y, entre ellas, el 55% eran *missense* seguido en orden por las variantes *frameshift* (13%), las *nonsense* (12%), las *splicing* (10%) y las grandes deleciones (10%) (179).

En estudios previos de nuestro grupo, se observó que la mayoría de los pacientes españoles presentaban la variante p.Ala204Thr en homocigosis (258). Así mismo, en los trabajos publicados por nuestro grupo de investigación de Enfermedades Renales Hereditarias y Raras del Instituto de Investigación Sanitaria Biocruces Bizkaia de pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III se describió que la mayoría de los pacientes con la variante *missense* p.Ala204Thr en homocigosis eran españoles, sugiriendo un posible efecto fundador (257, 258). Así mismo, en la cohorte actual de nuestro grupo, compuesta por un mayor número de pacientes, se sigue observando la misma tendencia. La variante p.Ala204Thr supuso el 65% de los alelos mutados, y si se seleccionan solamente los pacientes españoles, esta variante se halló en el 76% de los alelos. En toda la cohorte, 27 pacientes procedentes de 26 familias, presentaron la p.Ala204Thr

en homocigosis y todos, salvo uno, eran españoles. Según los estudios poblacionales realizados hasta la actualidad la p.Ala204Thr es una variante rara con una 4 (*Minor Allele Frequency*) < 0,001 en la población general. Sin embargo, en algunos estudios, se ha observado que al analizar a la población española la frecuencia de esta variante es mayor. En un trabajo realizado por nuestro grupo de investigación con 300 controles de ascendencia española se halló esta variante en 2 alelos en heterocigosis, lo que supondría una MAF de 0,003 (258). Por otro lado, en la base de 1000 Genomes donde se estudia a una población de 212 españoles se halló esta variante en dos alelos, suponiendo una MAF de 0,009. En nuestra cohorte, dos pacientes de origen latino presentaron la p.Ala204Thr, un paciente era procedente de Perú y presentaba esta variante homocigosis y la otra paciente era de Brasil y presentaba esta variante en heterocigosis compuesta con una variante *framsehift*. Es posible que en ambas familias existiera una ascendencia española, aunque este dato fue desconocido. En el apartado 11 de la discusión se comentan los aspectos del pronóstico a largo plazo de los pacientes 27 pacientes procedentes de 26 familias con la variante p.Ala204Thr en homocigosis.

En nuestra cohorte, en segundo lugar, se hallaron las grandes deleciones que suponían el 11% de todos los alelos mutados de la cohorte. Entre los pacientes españoles, en el 7% de los alelos mutados se hallaron grandes deleciones. Por el contrario, en los pacientes africanos (Norte de África y África Subsahariana) de nuestra cohorte, en 5 de los 6 alelos mutados se detectaron grandes deleciones. Entre los 3 pacientes africanos de nuestra cohorte, dos presentaron una gran deleción en homocigosis y en el tercer paciente se halló una gran deleción en heterocigosis compuesta con una pequeña deleción. Esta frecuencia de las grandes deleciones en pacientes de origen africano se ha observado previamente en otros estudios. En la primera publicación sobre pacientes de Síndrome de Bartter Tipo III, en todos los pacientes afroamericanos se describieron grandes deleciones homocigosis. Además, en ese trabajo, tres pacientes de Portugal y un paciente de Oriente Medio presentaron grandes deleciones en homocigosis (70). Así mismo, en otra serie de 17 pacientes de Irán, el 70% presentaron una gran deleción del gen *CLCNKB* en homocigosis (259). Por lo tanto, podemos decir que la mayoría de los pacientes afroamericanos y del oriente medio afectados de Síndrome de Bartter Tipo III presentan grandes deleciones en homocigosis en el gen *CLCNKB*.

Todas las variantes halladas en nuestra cohorte, salvo cuatro, están descritas en trabajos previos en otros pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III. Dos de ellas han sido publicadas

previamente por nuestro grupo de investigación (196). Estas dos variantes eran de tipo *frameshift*, concretamente, p.(Ser343Alafs*6) y p.(Leu252Serfs*97). Según el análisis *in silico* son consideradas causantes de enfermedad y la guía del Colegio Americano de Genética ACMG (del inglés, *American College of Medical Genetics*) las clasifica como variante patogénica. Sin embargo, las otras dos variantes nuevas halladas en nuestra cohorte, la *missense* p.Ala577Thr y la *missense* p.Gly57Gly, se consideran en las guías ACMG como variantes probablemente benigna y de significado incierto, respectivamente.

El paciente SOR 195 presentó la variante *missense* p.Ala577Thr en homocigosis. Se trata de una variante rara encontrándose en las bases de datos genómicas públicas con una frecuencia muy baja en heterocigosis (*Minor Allele Frequency* < 0,01). Teniendo en cuenta que el paciente presentaba una clínica muy sugestiva de Síndrome de Bartter, a pesar de que el análisis *in silico* y la guía ACMG la consideraban como probablemente benigna, en nuestro paciente consideramos que era causante de la enfermedad. Además, este paciente, al ser diagnosticado inicialmente de Síndrome de Gitelman, se descartó que presentara variantes en el gen *SLC12A3*. Hasta la actualidad no hay trabajos que hayan realizado estudios funcionales con esta variante. La variante p.Ala577Thr se encuentra en el dominio CBS1 del extremo carboxilo-terminal del canal ClC-Kb. Esta región, junto con la barttina, participa en la activación del canal. En estudios funcionales se ha demostrado que las variantes halladas en la región carboxilo-terminal, como por ejemplo la p.Trp610Ter, da lugar a una menor activación y a una dificultad de apertura del canal ClC-Kb debido a que no reciben el estímulo de la subunidad barttina para ello. Sin embargo, la función residual es mayor del 20% (431). Esto podría explicar que nuestro paciente presentara un fenotipo más leve, diagnosticándose a los 23 años de edad y que no presentara clínica severa desde el nacimiento. No obstante, sería interesante realizar estudios funcionales con la variante p.Ala577Thr para conocer el grado de afectación que genera la función del canal del cloro ClC-Kb y para poder confirmar su patogenicidad.

Por otro lado, los pacientes SOR 137 y SOR 163 presentaron la variante *missense* p.Gly57Glu en heterocigosis compuesta con una gran deleción y con la variante p.Ala204Thr, respectivamente. Esta variante no estaba previamente descrita en ningún otro paciente afecto de Síndrome de Bartter Tipo III, y es una variante que, hasta la actualidad, no se ha descrito en estudios poblacionales. Aunque la mayoría de los *software* de predicción la consideran una variante causante de enfermedad, la guía del Colegio Americano de Genética ACMG la

clasifica como una variante de significado incierto. No existen estudios funcionales realizados con esta nueva variante. Se sitúa al inicio del canal del cloro ClC-Kb, donde se inicia la región transmembrana, en la segunda hélice *alfa*.

La región transmembrana está entre ambos monómeros del canal, y es necesaria para que cada monómero realice el transporte de cloro. Existen otros pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III que presentan variantes *missense* que se sitúan en la misma región del canal, como por ejemplo la variante p.Ala61Asp, o la variante p.Arg76Ter, y los estudios funcionales han demostrado que dan lugar a una pérdida total de su función (164, 432). Además, tanto el paciente SOR 137 como SOR 163 presentan en el otro alelo una gran deleción dando lugar a una expresión nula de la proteína, y la variante española p.Ala204Thr cuya patogenicidad es conocida. Por lo tanto, debido a todo lo anterior, consideramos que la variante p.Gly57Glu fue causante de enfermedad en ambos pacientes de nuestra cohorte. No obstante, al igual que en el resto de las variantes nuevas, sería interesante realizar estudios funcionales para conocer el grado de disfunción que se genera en el canal del cloro y poder analizar su correlación con la clínica.

11. CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO EN EL SÍNDROME DE BARTTER TIPO III

El canal del cloro ClC-Kb está formado por dos subunidades o poros proteicos (monómeros) que forman un dímero y están situados en sentido perpendicular a la membrana plasmática de la célula. Cada subunidad consta de 18 hélices *alfa* (A-R) formadas por dos mitades orientadas de manera antiparalela (hélices *alfa* A-I y hélices *alfa* J-R). Además, cada monómero forma su propio e independiente poro (protoporo) realizando el transporte del cloro de manera independiente. Sin embargo, ambas subunidades tienen una superficie de contacto entre ellas denominada interfase, que se sitúa en la membrana plasmática en las hélices *alfa* G y H, y que es necesaria para el correcto funcionamiento de los monómeros. Las dos mitades de la subunidad envuelven un centro común con el fin de reunir a los aminoácidos de los extremos de las hélices *alfa* creando un gradiente electrostático positivo para el paso del cloro (249, 250). Por otro lado, cada monómero consta de una región amino y otra carboxilo terminal que se sitúan dentro de la célula de manera antiparalela con respecto a las dos subunidades. En la región carboxilo terminal existen dos dominios CBS (del inglés, *Cystathionine-Beta-Synthase*).

Entre ambos dominios CBS existe una hendidura donde se encuentra el aminoácido aspartato o la asparagina. Aunque no está clara la función que tienen los dominios CBS, se cree que pueden ser un punto de unión para los ligandos implicados en el transporte del cloro desde el citoplasma hacia la membrana para su posterior activación o apertura (251, 252). Además, la proteína CIC-Kb es sensible al calcio y al pH extracelular, de forma que cuando aumentan ayudan en la activación del canal del cloro aumentando la conductancia. En la proteína CIC-Kb existen puntos de unión del calcio para ello. Por otro lado, en los poros de cada monómero existen tres puntos de unión al cloro que permiten el paso de este anión hacia la zona extracelular.

En distintos estudios sobre el Síndrome de Bartter Tipo III se ha estudiado la correlación genotipo-fenotipo en base a los estudios funcionales en el canal del cloro CIC-Kb realizados con las distintas variantes halladas en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III. Dependiendo de la localización de la variante en la proteína CIC-Kb, y de la expresión o de la inserción de la proteína en la membrana plasmática, la función o la conductancia final del cloro a través del canal estará más o menos afectada (164). Hasta la actualidad se han descrito un gran número de variantes que se sitúan a lo largo de la proteína CIC-Kb afectando sobre todo al poro de los monómeros y a la zona de interfase que une ambos monómeros del canal CIC-Kb (178, 179, 187, 189, 194, 249, 261, 303, 304, 431).

En nuestra cohorte, para el análisis de la correlación genotipo-fenotipo, se revisaron las publicaciones sobre los estudios funcionales realizados con las variantes halladas en nuestra serie. Se clasificaron los pacientes en dos grupos según su genotipo, basándose en la conductancia residual que generaba cada variante (conductancia residual mayor del 20% o menor del 20%). Por un lado, no se halló una relación significativa entre el genotipo y la edad al diagnóstico, ni con el fenotipo clínico de presentación. En ambos grupos predominaron los pacientes con fenotipo antenatal y clásico sin diferencias significativas. Así mismo, en ambos grupos de genotipo hubo pacientes que presentaron un fenotipo similar al Síndrome de Gitelman, sin existir diferencias significativas. Además, las alteraciones hidroelectrolíticas, salvo la hipocloremia, fueron similares en ambos grupos. La media del cloro en plasma fue menor en los pacientes con genotipo más severo. Igualmente, en los estudios realizados hasta la actualidad, que analizan la correlación genotipo-fenotipo en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, se ha observado que los pacientes que presentan un genotipo más severo con

una conductancia residual del canal del cloro menor del 20% presentan una cloremia menor al diagnóstico. Sin embargo, a diferencia de nuestra cohorte, en otros estudios se ha observado una relación significativa entre el fenotipo clínico de presentación y el genotipo de los pacientes. Es decir, la mayoría de pacientes con genotipo severo presentan un fenotipo antenatal o neonatal o fenotipo clásico, mientras que la mayoría de los pacientes con genotipo más leve presentaron un fenotipo Gitelman (164, 179). En nuestra cohorte, teniendo en cuenta que la mayoría de los pacientes presentaban la variante p.Ala204Thr en homocigosis, el hecho de que no exista una relación significativa entre el fenotipo clínico y el genotipo, sugiere que existe una alta heterogeneidad clínica entre los pacientes con la variante española p.Ala204Thr. Igualmente, el hecho de que en el grupo de pacientes con genotipo severo también haya pacientes que presentan un fenotipo leve como el fenotipo Gitelman, plantea que la severidad fenotípica en el Síndrome de Bartter Tipo III no solamente depende de la severidad del genotipo, sino que existen otros factores relacionados.

Por otro lado, en nuestra cohorte, también se analizó la distribución de los tipos de variantes dependiendo el fenotipo clínico de presentación. Las grandes deleciones fueron las variantes más graves de la cohorte y, aunque el 90% de los alelos con grandes deleciones se hallaron en pacientes con fenotipo clínico antenatal o neonatal y clásico, el 10% se hallaron en pacientes con fenotipo Gitelman que se supone que es el fenotipo más leve y con presentación más tardía que el resto de fenotipos. Este resultado también se ha observado en otras series de pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III donde alrededor del 10-20% de las grandes deleciones se hallaron en fenotipos menos severos, apoyando la escasa correlación genotipo-fenotipo que existe en esta enfermedad (179, 193).

En nuestro estudio se analizó si existía una correlación entre el genotipo y el pronóstico a largo plazo de los pacientes, en cuanto a la función renal y la talla baja. Por un lado, la talla final fue similar independientemente del genotipo que presentaran los pacientes. Esto sugiere, que probablemente, el recibir un tratamiento adecuado y precoz es lo que marca la talla final de los pacientes, más que el genotipo que presenten. Por otro lado, no se halló ninguna relación entre el genotipo y el deterioro de la función renal a largo plazo. Además, en nuestra cohorte, entre los 11 pacientes que desarrollaron un deterioro de la función renal a largo plazo, el 72% presentó la variante p.Ala204Thr en homocigosis, el 18% presentó la p.Ala204Thr en heterocigosis compuesta con la variante *missense* p.Gly442Glu, y el 10% presentó la variante

nonsense p.Arg595* en homocigosis. Por un lado, la variante p.Gly442Glu se sitúa en la zona exterior del canal donde se realiza el filtro de selectividad de los iones de cloro que se conducen. Los estudios funcionales relacionados con esta variante han mostrado que se trata de una variante con una expresión reducida en la membrana (una expresión de alrededor de un 29% respecto al control) y que genera una conductancia residual de alrededor del 7,8% (164). Así mismo, se ha demostrado que la variante *nonsense* p.Arg595* situada en el dominio CBS1, el cual es indispensable para la correcta activación del canal, da lugar a una conductancia residual prácticamente nula (179). Por último, la variante *missense* p.Ala204Thr, la más frecuente en nuestra cohorte, se sitúa en la zona de interfase dimérica en la hélice *alfa* G del canal ClC-Kb. En este caso, la expresión de la proteína ClC-Kb en la membrana plasmática es prácticamente normal y presenta una conductancia residual de cloro de aproximadamente el 30-40% con respecto a los controles (260). Por lo tanto, en principio, podemos decir que la p.Ala204Thr no es una variante tan severa como el resto de variantes que presentaron los pacientes con enfermedad renal crónica en nuestra cohorte. Sin embargo, el 55% de los pacientes de nuestra cohorte presentaron esta variante en homocigosis, y a pesar de tener un genotipo más leve, hasta el 30% de éstos desarrollaron enfermedad renal crónica a largo plazo. Por el contrario, ningún paciente de nuestra cohorte con una gran delección en homocigosis presentó un deterioro crónico de la función renal, aunque el tiempo de evolución de estos pacientes era menor, entre 1 y 5 años.

Otra muestra de la escasa correlación genotipo-fenotipo del Síndrome de Bartter Tipo III es la alta variabilidad en la presentación clínica de los pacientes con la variante p.Ala204Thr en homocigosis de nuestra cohorte. Entre los 27 pacientes de nuestra cohorte con la variante p.Ala204Thr en homocigosis, el 37% presentaron un fenotipo antenatal o neonatal, el 52% un fenotipo clásico y el 11% un fenotipo Gitelman. Además, como se ha comentado anteriormente, a pesar de presentar la misma variante, no todos los pacientes presentan la misma evolución y el 30% evolucionaron hacia una enfermedad renal crónica.

En relación a la escasa correlación genotipo-fenotipo en el Síndrome de Bartter Tipo III, se observa también cómo la presentación y la evolución clínica es diferente en los pacientes afectados de una misma familia. Esta variabilidad clínica tanto en la presentación como en la evolución a largo plazo entre pacientes que presentan variantes idénticas en el gen *CLCNKB* ha sido descrita previamente en la literatura (259, 311). Por ejemplo, en nuestra cohorte, en la

familia SOR 24, la paciente SOR 24A se diagnóstica a los 10 meses de edad en contexto de un retraso ponderoestatural con un fenotipo de Síndrome de Bartter Clásico, mientras que su hermana mayor SOR 24B se diagnóstica a raíz del diagnóstico de SOR 24A a los 17 años de edad con un fenotipo similar al Síndrome de Gitelman con desarrollo ponderoestatural normal. Esta paciente solamente presentó como signo clínico una avidez por la sal desde la infancia. Así mismo, en la familia SOR 54, donde existen tres miembros afectados de Síndrome de Bartter Tipo III diagnosticados antes del año de edad con un fenotipo clínico clásico, solamente dos de los hermanos (SOR 54A y SOR 54B) desarrollan enfermedad renal crónica a largo plazo. Por último, en la familia SOR 124, la paciente SOR 124A presenta un fenotipo de Síndrome de Bartter Clásico diagnosticándose a los 8 meses de vida. Por el contrario, su hermano SOR 124B, aunque se diagnostica en el periodo de lactante a los 6 meses de vida, presentó un fenotipo clínico antenatal con polihidramnios durante el embarazo.

Por lo tanto, podemos decir que existe una escasa correlación genotipo-fenotipo en el Síndrome de Bartter Tipo III, y que la severidad de la afectación del canal del cloro secundaria al genotipo no es por sí sola un factor que predispone a un peor pronóstico. No obstante, como hemos comentado previamente a lo largo de la discusión, es probable que el conjunto de otros factores como la edad de diagnóstico, las alteraciones electrolíticas o las variaciones interindividuales en los mecanismos de compensación estén relacionados en la evolución a largo plazo de esta enfermedad.

Por último, cabe recalcar la importancia de realizar el estudio molecular en los pacientes con sospecha de tubulopatía pierde sal. Teniendo en cuenta la gran variabilidad clínica tanto en la presentación clínica como en la evolución a largo plazo, así como la similitud en la clínica de los distintos tipos de tubulopatías pierde sal, el análisis molecular proporciona tanto al paciente como a su familia una información más veraz sobre la historia natural de esta enfermedad. Además, permite ofrecer un consejo genético más preciso, además de mejorar el seguimiento de los pacientes. En este aspecto, en la actualidad, el uso de técnicas de secuenciación masiva y el uso de paneles de genes son herramientas muy útiles que permiten conocer si existen alteraciones en otros genes que podrían ayudar a entender la variabilidad clínica que existe en las tubulopatías pierde sal.

12. COMPLICACIONES DURANTE EL EMBARAZO EN LAS MUJERES AFECTAS DE SÍNDROME DE BARTTER TIPO III

Hasta la actualidad, no se ha descrito una mayor frecuencia de complicaciones a lo largo del embarazo en los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, ni siquiera en los pacientes en los que el diagnóstico de la enfermedad se realizó durante o posterior al embarazo (433-438). Igualmente, en el Síndrome de Gitelman, los casos de embarazos reportados no refieren complicaciones a lo largo del embarazo si se realiza un control estricto de las alteraciones electrolíticas (439, 440). Durante el embarazo, existe una hiperestimulación del sistema renina-angiotensina-aldosterona que aumenta las pérdidas de potasio por orina agravando la hipokalemia (441). Este fenómeno está compensado, en parte, por los cambios hemodinámicos, y por el aumento de niveles de progesterona en sangre que juega un papel protector debido a su unión al receptor mineralocorticoideo (433, 442). A pesar de ello, los niveles de potasio disminuyen sobre todo alrededor de la mitad de la gestación, por lo que se debe monitorizar la kalemia de manera estrecha requiriendo en ocasiones un aumento de los suplementos de potasio a lo largo del embarazo (443, 444).

En nuestra cohorte, a lo largo de la evolución tres mujeres tuvieron 8 embarazos, de los cuales, tres no progresaron: dos fueron abortos del primer trimestre y uno del tercer trimestre. La incidencia de abortos espontáneos en la población general es de alrededor del 20% de los embarazos, pudiendo llegar hasta el 30% en el primer trimestre de gestación según algunos estudios (445, 446). Por lo tanto, no se consideró que los abortos espontáneos de nuestra serie tuvieran relación con la enfermedad de base. El tercer embarazo que no progresó fue una muerte fetal tardía en la semana 37 de gestación (paciente SOR 8). La anatomía patológica de la placenta mostró una placenta madura con microcalcificaciones e infartos focales con un hematoma retroplacentario. La muerte fetal por anomalías placentarias supone la segunda causa de muerte fetal tardía y además, las calcificaciones en la placenta es un hallazgo fisiológico en gestaciones a término (445, 447). Por lo tanto, no consideramos que la muerte fetal en este caso tuviera relación con el Síndrome de Bartter Tipo III. Se desconoce si se practicó la autopsia al feto por lo que no pudimos descartar totalmente la presencia de alguna malformación congénita asociada macro o microscópica en el feto. Sin embargo, las ecografías prenatales fueron normales hasta ese momento, sin presenciar anomalías placentarias o malformaciones estructurales congénitas, y el feto presentó un peso y una talla adecuados para

la edad gestacional. Por otro lado, aunque la variación de la dosis del suplemento de potasio o los valores en plasma de potasio durante la gestación no estuvieron disponibles, solamente una paciente (SOR 5) presentó descompensaciones agudas en el contexto de vómitos en el primer trimestre del embarazo precisando ingreso hospitalario.

En nuestra cohorte todos los embarazos fueron planificados retirándose previamente los antiinflamatorios no esteroideos como la indometacina e inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs). La indometacina y los IECAs atraviesan con facilidad la placenta durante la gestación y la teratogenicidad en el feto varía según la etapa del embarazo. El uso de los antiinflamatorios no esteroideos durante el embarazo se ha asociado a cardiopatías congénitas, disfunción renal, hemorragia cerebral en pretérminos y enterocolitis necrotizante, entre otros (448, 449). Por otro lado, el empleo de IECAs durante el embarazo se ha asociado con disfunción renal, oligohidramnios y retraso de la osificación (450-452). Por ello, es importante planificar el embarazo en pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III e informar de los posibles riesgos para prevenir las malformaciones asociadas a estos fármacos. Después del parto, se debe reintroducir el tratamiento de base y continuar con los controles habituales en la paciente.

En nuestro estudio, el periodo neonatal de todos los recién nacidos transcurrió sin incidencias, todos presentaron un peso adecuado para la edad gestacional. A pesar de no obtener detalles sobre la evolución neurológica de los hijos de pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III, según datos reflejados en la historia, se dedujo que eran niños sanos. Hasta la actualidad no existen casos reportados en la literatura de retraso neurológico en los hijos de pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III.

Por lo tanto, podemos decir que, en general, el embarazo en las mujeres afectas de Síndrome de Bartter Tipo III no supone un riesgo añadido para las pacientes ni para el feto, siempre que sea planificado y se realicen controles estrechos de la kalemia a lo largo de todo el embarazo.

VII. RESUMEN DE LOS HALLAZGOS

En nuestra cohorte de 49 pacientes afectados de Síndrome de Bartter Tipo III existe un amplio espectro de severidad en la presentación clínica. Un tercio de los pacientes presentaron un fenotipo clínico similar al Síndrome de Bartter Antenatal o Neonatal, la mitad un fenotipo de Síndrome de Bartter Clásico y sólo un 12% un fenotipo de Síndrome de Gitelman. Además, un tercio de los pacientes presentaron polihidramnios durante el embarazo y solamente un 15% nacieron prematuramente. Casi todos los pacientes se diagnosticaron en la infancia o en la adolescencia y el 60% antes del año de edad. La edad al diagnóstico de los pacientes con fenotipo Gitelman fue mayor que la de los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal y fenotipo clásico. Sin embargo, probablemente debido al diagnóstico tardío de algunos pacientes de nuestra cohorte, a pesar de presentar un fenotipo antenatal, no se hallaron diferencias en la edad al diagnóstico entre los pacientes con fenotipo antenatal o neonatal y con fenotipo clásico. Además, se halló una relación significativa entre el año y la edad del diagnóstico clínico. Así, los pacientes que se diagnosticaron antes del año 2000 tenían una edad mayor que los pacientes diagnosticados posteriormente al año 2000. Es probable que el desarrollo de la biología molecular a partir de la década de los 90 ha permitido un mejor conocimiento de la enfermedad facilitando el diagnóstico precoz.

El signo clínico más frecuente al diagnóstico de la enfermedad fue el fallo de medro en los tres grupos de fenotipo clínico de presentación. La hipotonía y la deshidratación fueron signos clínicos casi exclusivos de los pacientes con fenotipo antenatal. Por el contrario, los calambres, la astenia y las palpitaciones sólo se hallaron en los pacientes con fenotipo Gitelman. Por otro lado, aunque globalmente podemos decir que los pacientes de nuestra cohorte presentaron un desarrollo neurológico normal, sería necesario realizar una valoración neurológica de manera homogénea para valorar la capacidad intelectual que presentan a largo plazo. Así mismo, hasta el 10% de nuestra cohorte presentaba un cuadro ansioso-depresivo, lo que apoya la importancia de realizar un seguimiento psicológico de estos pacientes como parte del tratamiento de una enfermedad crónica como es el Síndrome de Bartter Tipo III.

En cuanto a las alteraciones hidroelectrolíticas de nuestra cohorte, no todos los pacientes presentaron hipocloremia al diagnóstico de la enfermedad y globalmente la hipocloremia fue menos severa que en otros estudios. Este hecho, probablemente, es debido a que la mayoría de los pacientes de nuestra cohorte presentaban la variante p.Ala204Thr en homocigosis, que da lugar a una alteración más leve del canal del cloro, en comparación con otras variantes más

severas, como por ejemplo, las grandes deleciones. Además, los pacientes que eran menores de 2 años al diagnóstico de la enfermedad presentaron una hipocloremia más severa al diagnóstico que los pacientes mayores de 2 años, sugiriendo una inmadurez del túbulo renal los primeros meses de vida, con menor capacidad de compensar las pérdidas renales de cloro.

Por otro lado, todos los pacientes presentan una hipokalemia y una alcalosis metabólica al diagnóstico de la enfermedad. En un tercio de la cohorte, esta hipokalemia es severa encontrándose por debajo de 2 mEq/l. A lo largo de la evolución, aunque la kalemia mejora, prácticamente en todos pacientes persisten tanto la hipokalemia como la alcalosis metabólica a pesar del tratamiento continuado, sugiriendo que los pacientes presentan un hiperaldosteronismo crónico. Todo ello apoya la necesidad de mantener un aporte de sal y una hidratación adecuada en esta enfermedad para intentar disminuir la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona y evitar, en la medida de lo posible, las complicaciones asociadas a éste. Por otra parte, en nuestra cohorte, no se halló una relación significativa entre la dosis de potasio que recibían los pacientes y los niveles de potasio en plasma. Teniendo en cuenta que el potasio ingerido se elimina en pocas horas por orina, podemos decir que, a pesar de prescribir dosis altas de potasio, en algunos pacientes es difícil mejorar la kalemia. Finalmente, aunque aproximadamente un tercio de los pacientes de nuestra cohorte precisaron iniciar suplementos de sodio por hiponatremia al diagnóstico, la natremia globalmente mejora a lo largo de la evolución. Además, la hiponatremia fue más frecuente en los pacientes que eran menores de 2 años al diagnóstico. Probablemente, al igual que con el cloro, los pacientes con la edad adquieren la madurez tubular necesaria para compensar las pérdidas de sal por orina. Así mismo, es posible que los pacientes más mayores sean capaces de compensar las pérdidas por orina mediante el aumento de la ingesta de sal en la dieta.

En nuestra cohorte, alrededor de un tercio presentaron hipercalciuria y un 8% presentaron hipomagnesemia al diagnóstico. Además, el 14% desarrollaron nefrocalcinosis a lo largo de la evolución de la enfermedad y el 8% presentaron litiasis. A lo largo de la evolución, el porcentaje de pacientes que desarrollan hipocalciuria e hipomagnesemia aumenta significativamente presentando un fenotipo similar al Síndrome de Gitelman. Esto sugiere que el túbulo contorneado distal, un segmento donde también se expresan los canales ClC-Kb y donde no existe ningún mecanismo que compense las pérdidas de cloro por orina, con el tiempo, presente una disfunción más severa explicando la evolución del fenotipo de algunos pacientes.

Globalmente, los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III presentan una mejoría en el desarrollo ponderoestatural a lo largo de la evolución, independientemente del fenotipo clínico al diagnóstico. Al estudiar los factores que podrían estar relacionados con el crecimiento, se observó que en los pacientes con talla baja final tenían un tiempo de seguimiento menor. Esto se debe probablemente a la necesidad de un mayor tiempo de tratamiento de su enfermedad en los pacientes más jóvenes para realizar un *catch-up* adecuado. Por otro lado, los pacientes con talla baja al final del estudio presentaron una hipokalemia y una alcalosis metabólica más severa al diagnóstico, sugiriendo que el hiperaldosteronismo crónico es un factor negativo en el desarrollo ponderoestatural. Además, algunos pacientes con talla baja final presentaron muy mala adherencia al tratamiento con indometacina y con los suplementos orales de sodio y potasio. En este sentido, cabe recalcar la importancia de optimizar el tratamiento ajustando la dosis de indometacina, y de administrar cloruro sódico con el fin de evitar el hiperaldosteronismo crónico. Así mismo, es importante asegurar un buen cumplimiento terapéutico para asegurar el correcto desarrollo ponderoestatural.

En cuanto al pronóstico a largo plazo, el 22% de los pacientes presentaron un deterioro crónico de la función renal tras una mediana de tiempo de evolución de 12 años. Al estudiar los factores relacionados con el deterioro crónico de la función renal, se observó que los pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) presentaron una hipokalemia y una alcalosis metabólica más severa al diagnóstico que los pacientes con función renal normal, lo que sugiere que estos pacientes presentaron un hiperaldosteronismo mayor. Por otro lado, los pacientes que desarrollaron ERC a largo plazo en nuestra cohorte se diagnosticaron más tarde que los pacientes con función renal normal, explicando que la exposición prolongada a mecanismos fisiopatológicos como el hiperaldosteronismo podría estar relacionado con un pronóstico renal peor en el Síndrome de Bartter Tipo III, por la fibrosis intersticial y glomerular que genera a largo plazo. Sin embargo, no podemos considerar que el hiperaldosteronismo sea el único factor relacionado con la ERC, ya que en todos los grupos de fenotipo clínico de presentación existen pacientes con deterioro crónico renal. Así, existen pacientes con fenotipo Gitelman, fenotipo más leve que el antenatal o el clásico y probablemente con un menor estímulo crónico del sistema renina-angiotensina-aldosterona, que desarrollan ERC a largo plazo. Al contrario, no todos los pacientes con fenotipo antenatal, considerados como pacientes con mayor hiperaldosteronismo que los pacientes con el resto de fenotipos, presentan mal pronóstico renal a largo plazo.

En relación al tratamiento farmacológico, todos los pacientes, salvo dos, recibieron antiinflamatorios no esteroideos no selectivos de la enzima ciclooxigenasa a largo plazo y solamente el 60% de los pacientes recibían un protector gástrico. El 14% referían síntomas gastrointestinales, y en dos pacientes que no recibían protector gástrico se interrumpió el tratamiento con AINEs debido a úlceras gástricas. No se debe olvidar la importancia de prescribir un protector gástrico junto con los AINEs de cara a evitar en la medida de lo posible sus efectos adversos. Por otra parte, en nuestra cohorte el empleo de inhibidores de la aldosterona y de inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina aumenta significativamente a lo largo de la evolución. Entre éstos, algunos presentaban ERC con o sin proteinuria, y otros tenían una función renal normal. Ambos fármacos son conocidos por su efecto nefroprotector en la ERC y como ahorrador de potasio en el Síndrome de Bartter Tipo III con el fin de mejorar la kalemia. Sin embargo, su uso debe individualizarse teniendo en cuenta que inhibe el principal mecanismo de compensación en los segmentos distales del túbulo, lo que podría empeorar la hipovolemia en algunos casos.

En cuanto al genotipo y su efecto en el fenotipo, en nuestra cohorte, el tipo de variante más frecuentemente hallada en el gen *CLCNKB* fue la *missense*, concretamente la p.Ala204Thr. Así, 27 de los 49 pacientes afectos presentaron la variante p.Ala204Thr en homocigosis y todos, salvo uno, eran españoles. Al analizar la correlación genotipo-fenotipo en nuestra serie, al contrario que otros estudios, no se observó ninguna correlación entre la función residual del canal de cloro ClC-Kb y el fenotipo clínico de presentación o la evolución clínica a largo plazo. Además, en nuestra serie existe una alta variabilidad en la presentación clínica y en la evolución de los pacientes que pertenecen a la misma familia. Así mismo, entre los 11 pacientes con ERC de la cohorte, todos salvo uno presentaban la variante p.Ala204Thr en homocigosis, una variante que, como se ha comentado anteriormente, no altera de manera tan severa la conductancia final del canal del cloro. Por lo tanto, podemos decir que la afectación del canal del cloro secundaria al genotipo no es por sí sola un factor que predispone a un pronóstico peor en el Síndrome de Bartter Tipo III.

Por último, todos los embarazos de las mujeres de nuestra cohorte fueron planificados y controlados, y globalmente, no presentaron complicaciones asociadas al Síndrome de Bartter Tipo III. Solamente una paciente presentó episodios de hipokalemia en contexto de vómitos durante el primer trimestre. Por lo tanto, podemos decir, que siempre que se planifiquen y se

realice un control estricto de las alteraciones hidroelectrolíticas, el embarazo no supone un riesgo añadido para las pacientes ni para sus hijos.

VIII. CONCLUSIONES

El Síndrome de Bartter Tipo III se caracteriza por una amplia variabilidad fenotípica tanto en la presentación clínica como en su pronóstico a largo plazo.

- a) La mayoría de casos se diagnostican en la infancia, antes de los dos años de edad. El fenotipo clínico de presentación más frecuente es el clásico, seguido por el fenotipo antenatal o neonatal y el fenotipo Gitelman. El retraso ponderoestatural es el signo clínico más frecuente al diagnóstico en los tres fenotipos clínicos, seguido de la poliuria y la polidipsia. Los calambres, la astenia y las palpitaciones son prácticamente exclusivas del fenotipo Gitelman. Las alteraciones hidroelectrolíticas al diagnóstico de la enfermedad son más severas en pacientes menores de dos años y, en general, la nefrocalcinosis, las litiasis y la hipercalciuria son hallazgos poco frecuentes. La hipokalemia severa se relaciona con alteraciones cardiológicas severas, que en ocasiones poco frecuentes pueden tener una evolución fatal. No existen diferencias significativas en las alteraciones electrolíticas entre los tres grupos de fenotipo clínico.
- b) Globalmente, tras iniciar el tratamiento, los pacientes mejoran clínicamente. Sin embargo, la alcalosis metabólica y la hipokalemia persisten a lo largo de la evolución. Con el tiempo, alrededor de un tercio de los pacientes evolucionan hacia un fenotipo Gitelman.
- c) La mayoría de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III presentan un adecuado desarrollo ponderoestatural a largo plazo, alcanzando en la edad adulta un peso normal y una talla normal respecto a la población general, siempre que presenten una adherencia terapéutica correcta. Por otro lado, la hipokalemia y la alcalosis metabólica severa al diagnóstico se relacionan con una talla baja final. Además, cerca de una cuarta parte de los pacientes desarrollan un deterioro crónico de la función renal. El diagnóstico tardío de la enfermedad, el tiempo de evolución menor, así como la hipokalemia y la alcalosis metabólica severa al diagnóstico son factores de riesgo para desarrollo de enfermedad renal crónica. Estos hallazgos plantean que el hiperaldosteronismo podría ser un factor relacionado con un peor pronóstico a

- largo plazo, por lo que, además del tratamiento con indometacina y con suplementos orales de potasio, es preciso que los pacientes reciban aportes de sal y que mantengan una hidratación adecuada.
- d)** En relación al tratamiento, prácticamente la totalidad de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III reciben antiinflamatorios no esteroideos no selectivos de la ciclooxigenasa, y poco más de la mitad asocian un protector gástrico. Aunque, en general, el número de pacientes con efectos secundarios gastrointestinales es bajo, algunos pacientes presentan úlceras gástricas o duodenales precisando la suspensión del fármaco. Por lo tanto, es recomendable la prescripción concomitante de un protector gástrico. Por otro lado, el empleo de los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina y los diuréticos ahorradores de potasio (espironolactona o eplerrenona) aumenta significativamente durante el seguimiento empleándolo bien por su efecto nefroprotector, o como tratamiento alternativo para mejorar las alteraciones electrolíticas.
- e)** El tipo de variante genotípica más frecuente en el gen *CLCNKB* asociada al Síndrome de Bartter Tipo III es la *missense*. Mientras que entre los pacientes españoles la p.Ala2014Thr en homocigosis es la variante más frecuente, entre los pacientes de origen africano predominan las grandes deleciones. No existe ninguna correlación genotipo-fenotipo en relación a las características al diagnóstico ni en la evolución a largo plazo de los pacientes con Síndrome de Bartter Tipo III. Así mismo, existe una gran variabilidad intrafamiliar tanto en el fenotipo clínico de presentación como en la evolución a largo plazo.
- f)** Los pacientes con la variante p.Ala204Thr en homocigosis presentan una gran heterogeneidad en la presentación clínica y en el pronóstico a largo plazo. Alrededor de un tercio de estos pacientes desarrollan enfermedad renal crónica a lo largo de la evolución de la enfermedad.
- g)** El embarazo en mujeres con Síndrome de Bartter Tipo III no supone un mayor riesgo para la paciente ni para el feto siempre que sea planificado y que se realice una

estricta monitorización de las alteraciones electrolíticas. Previo al embarazo, se deberán suspender los antiinflamatorios no esteroideos y los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina para evitar las malformaciones fetales asociadas a estos fármacos.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Hoenig MP, Zeidel ML. Homeostasis, the Milieu Interieur, and the Wisdom of the Nephron. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014;9(7):1272-81.
2. Wang Z, Ying Z, Bosty-Westphal A, Zhang J, Schautz B, Later W, et al. Specific metabolic rates of major organs and tissues across adulthood evaluation by mechanistic model of resting energy expenditure. *Am J Clin Nutr*. 2010;92(6):1369-77.
3. Roy A, Al-bataineh MM, Pastor-Soler NM. Collecting Duct Intercalated Cell Function and Regulation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10(2):305-24.
4. Kriz W BL. A standard nomenclature for structures of the kidney. The Renal Commission of the International Union of Physiological Sciences (IUPS). *Kidney Int*. 1988; 33:1-7.
5. Kleta R, Bockenhauer D. Salt-Losing Tubulopathies in Children: What's New, What's Controversial? *J Am Soc Nephrol*. 2018;29(3):727-39.
6. Gottschalk CW, Mylle M, Knepper MA. Micropuncture study of the mammalian urinary concentrating mechanism: Evidence for the countercurrent hypothesis. *J Am Soc Nephrol*. 1997;8(1):153-64.
7. Boron WF. Acid-base transport by the renal proximal tubule. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17(9):2368-82.
8. Jones G, Prosser DE, Kaufmann M. 25-Hydroxyvitamin D-24-hydroxylase (CYP24A1): Its important role in the degradation of vitamin D. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2012;523(1):9-18.
9. Devito E, Cabrera RR, Fasciolo JC. Renin production and release by rat kidney slices. *Am J Physiol*. 1970;219(4):1042-1045.
10. Koury ST, Bondurant MC, Koury MJ. Localization of erythropoietin synthesizing cells in murine kidneys by insitu hybridization. *Blood*. 1988;71(2):524-7.
11. Moe OW, Ujiiie K, Star RA, Miller RT, Widell J, Alpern RJ, et al. Renin expression in renal proximal tubule. *J Clin Invest*. 1993;91(3):774-9.
12. Meyer C, Dostou JM, Gerich JE. Role of the human kidney in glucose counterregulation. *Diabetes*. 1999;48(5):943-8.
13. Donowitz M, Li X. Regulatory binding partners and complexes of NHE3. *Physiol Rev*. 2007;87(3):825-72.
14. Yun CHC, Tse CM, Nath SK, Levine SA, Brant SR, Donowitz N. Mammalian Na^+/H^+ exchanger gene family - structure and function studies. *Am J Physiol*. 1995;269(1):1-11.
15. Amemiya M, Loffing J, Lotscher M, Kaissling B, Alpern RJ, Moe OW. Expression of *nhe-3* in the apical membrane of rat renal proximal tubule and thick ascending limb. *Kidney Int*. 1995;48(4):1206-15.
16. Becker AM, Zhang J, Goyal S, Dwarakanath V, Aronson PS, Moe OW, et al. Ontogeny of NHE8 in the rat proximal tubule. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007;293(1):255-61.
17. Alpern RJ, Chambers M. Cell pH in the rat proximal convoluted tubule - regulation by luminal and peritubular pH and sodium concentration. *J Clin Invest*. 1986;78(2):502-10.
18. Aronson PS. Mechanisms of active H^+ -secretion in the proximal tubule. *Am J Physiol*. 1983;245(6):647-59.
19. Boron WF, Fong PY, Hediger MA, Boulpaep EL, Romero MF. The electrogenic Na/HCO_3 cotransporter. *Wien Klin Wochenschr*. 1997;109(12-13):445-56.
20. Janecke AR, Heinz-Erian P, Yin J, Petersen B-S, Franke A, Lechner S, et al. Reduced sodium/proton exchanger NHE3 activity causes congenital sodium diarrhea. *Hum Mol Genet*. 2015;24(23):6614-23.
21. Curthoys NP, Moe OW. Proximal Tubule Function and Response to Acidosis. *Clinical Journal of the Am Soc Nephrol*. 2014;9(9):1627-38.

22. Harris PJ, Young JA. Dose-dependent stimulation and inhibition of proximal tubular sodium-reabsorption by angiotensin in rat-kidney. *Pflugers Arch.* 1977;367(3):295-7.
23. Baum M, Quigley R. Inhibition of proximal convoluted tubule transport by dopamine. *Kidney Int.* 1998;54(5):1593-600.
24. Garcia NH, Garvin JL. Endothelins biphasic effect on fluid absorption in the proximal straight tubule and its inhibitory cascade. *J Clin Invest.* 1994;93(6):2572-7.
25. Kari JA, El Desoky SM, Singh AK, Gari MA, Kleta R, Bockenhauer D. The Case Renal tubular acidosis and eye findings Proximal renal tubular acidosis with ocular abnormalities The Diagnosis Proximal renal tubular acidosis with ocular abnormalities. *Kidney Int.* 2014;86(1):217-8.
26. Vivante A, Lotan D, Pode-Shakked N, Landau D, Svec P, Nampoothiri S, et al. Familial Autosomal Recessive Renal Tubular Acidosis: Importance of Early Diagnosis. *Nephron Physiol.* 2011;119(3):31-9.
27. Dasgupta D, Wee MJ, Reyes M, Li Y, Simm PJ, Sharma A, et al. Mutations in SLC34A3/NPT2c Are Associated with Kidney Stones and Nephrocalcinosis. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25(10):2366-75.
28. Lichter-Konecki U, Broman KW, Blau EB, Konecki DS. Genetic and physical mapping of the locus for autosomal dominant renal Fanconi syndrome, on chromosome 15q15.3. *Am J Hum Genet.* 2001;68(1):264-8.
29. Klootwijk ED, Reichold M, Helip-Wooley A, Tolaymat A, Broeker C, Robinette SL, et al. Mistargeting of Peroxisomal EHHADH and Inherited Renal Fanconi's Syndrome. *N Engl J Med.* 2014;370(2):129-38.
30. Assmann N, Dettmer K, Simbuerger JMB, Broeker C, Nuernberger N, Renner K, et al. Renal Fanconi Syndrome Is Caused by a Mistargeting-Based Mitochondriopathy. *Cell Rep.* 2016;15(7):1423-9.
31. Klootwijk ED, Reichold M, Unwin RJ, Kleta R, Warth R, Bockenhauer D. Renal Fanconi syndrome: taking a proximal look at the nephron. *Nephrol Dial Transplant.* 2015;30(9):1456-60.
32. Tolaymat A, Sakarcan A, Neiberger R. Idiopathic fanconi syndrome in a family .1. clinical aspects. *J Am Soc Nephrol.* 1992;2(8):1310-7.
33. Improda N, Shah P, Guemes M, Gilbert C, Morgan K, Sebire N, et al. Hepatocyte Nuclear Factor-4 Alfa Mutation Associated with Hyperinsulinaemic Hypoglycaemia and Atypical Renal Fanconi Syndrome: Expanding the Clinical Phenotype. *Horm Res Paediatr.* 2016;86(5):337-41.
34. Walsh SB, Unwin R, Kleta R, Van't Hoff W, Bass P, Hussain K, et al. Fainting Fanconi syndrome clarified by proxy: a case report. *BMC Nephrology.* 2017;18:230-34.
35. Van den Heuvel LP, Assink K, Willemsen M, Monnens L. Autosomal recessive renal glucosuria attributable to a mutation in the sodium glucose cotransporter (SGLT2). *Hum Genet.* 2002;111(6):544-7.
36. Cinelli AR, Efendiev R, Pedemonte CH. Trafficking of Na-K-ATPase and dopamine receptor molecules induced by changes in intracellular sodium concentration of renal epithelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2008;295(4):F1117-F25.
37. Feraille E, Doucet A. Sodium-potassium-adenosinetriphosphatase-dependent sodium transport in the kidney: Hormonal control. *Physiol Rev.* 2001;81(1):345-418.
38. Ichikawa I, Brenner BM. Importance of efferent arteriolar vascular tone in regulation of proximal tubule fluid reabsorption and glomerulotubular balance in the rat. *J Clin Invest.* 1980;65(5):1192-201.
39. Parker MD, Boron WF. The divergence, actions, roles, and relatives of sodium-coupled bicarbonate transporters. *Physiol Rev.* 2013;93(2):803-959.
40. Bobulescu IA, Moe OW. Na⁺/H⁺ exchangers in renal regulation of acid-base balance. *Semin Nephrol.* 2006;26(5):334-44.
41. Hamm LL. Renal handling of citrate. *Kidney Int.* 1990;38(4):728-35.

42. Brennan S, Heringsmith K, Hamm LL. Effect of pH on citrate reabsorption in the proximal convoluted tubule. *Am J Physiol.* 1988;255(2):301-6.
43. Hamm LL, Simon EE. Roles and mechanisms of urinary buffer excretion. *Am J Physiol.* 1987;253(4):595-605.
44. Boron WF. Sodium-coupled bicarbonate transporters. *JOP.* 2001;2(4 Suppl):176-81.
45. Rotig A. Renal disease and mitochondrial genetics. *J Nephrol.* 2003;16(2):286-92.
46. Schlingmann KP, Ruminska J, Kaufmann M, Dursun I, Patti M, Kranz B, et al. Autosomal-Recessive Mutations in SLC34A1 Encoding Sodium-Phosphate Cotransporter 2A Cause Idiopathic Infantile Hypercalcemia. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(2):604-14.
47. Magen D, Berger L, Coady MJ, Ilivitzki A, Militianu D, Tieder M, et al. BRIEF REPORT A Loss-of-Function Mutation in NaPi-IIa and Renal Fanconi's Syndrome. *N Engl J Med.* 2010;362(12):1102-9.
48. Blaustein MP. The interrelationship between sodium and calcium fluxes across cell membranes. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 1974;70:33-82.
49. Gmaj P, Murer H, Kinne R. Calcium-ion transport across plasma-membranes isolated from rat-kidney cortex. *Biochem J.* 1979;178(3):549-57.
50. Mullins LJ. Steady-state calcium fluxes - membrane versus mitochondrial control of ionized calcium in axoplasm. *Fed Proc.* 1976;35(14):2583-8.
51. Frindt G, Lee CO, Yang JM, Windhager EE. Potential role of cytoplasmic calcium-ions in the regulation of sodium-transport in renal tubules. *Miner Electrolyte Metab.* 1988;14(1):40-7.
52. Taylor A, Windhager EE. Possible role of cytosolic calcium and Na-Ca exchange in regulation of trans-epithelial sodium-transport. *Am J Physiol.* 1979;236(6):F505-F12.
53. Martin MG, Turk E, Lostao MP, Kerner C, Wright EM. Defects in Na⁺ glucose cotransporter (SGLT1) trafficking and function cause glucose-galactose malabsorption. *Nat Genet.* 1996;12(2):216-20.
54. Santer R, Kinner M, Lassen CL, Schneppenheim R, Eggert P, Bald M, et al. Molecular analysis of the SGLT2 gene in patients with renal glucosuria. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(11):2873-82.
55. Wright EM, Loo DDF, Hirayama BA. Biology of Human Sodium Glucose Transporters. *Physiol Rev* 2011;91(2):733-94.
56. Kleta R, Stuart C, Gill FA, Gahl WA. Renal glucosuria due to SGLT2 mutations. *Mol Genet Metab.* 2004;82(1):56-8.
57. Pannabecker TL. Structure and Function of the Thin Limbs of the Loop of Henle. *Compr Physiol.* 2012;2(3):2063-86.
58. Nielsen S, Pallone T, Smith BL, Christensen EI, Agre P, Maunsbach AB. Aquaporin-1 water channels in short and long loop descending thin limbs and in descending vasa recta in rat kidney. *Am J Physiol.* 1995;268(6 Pt 2):F1023-37.
59. Mount DB. Thick Ascending Limb of the Loop of Henle. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2014;9(11):1974-86.
60. Hernando Aveldaño L. *Nefrología Clínica.* 3ª Edición. Madrid (España): Editorial Panamericana; 2008: 21-36.
61. Ares GR, Caceres PS, Ortiz PA. Molecular regulation of NKCC2 in the thick ascending limb. *American J Physiol Renal Physiol.* 2011;301(6):F1143-F59.

62. Nielsen S, Maunsbach AB, Ecelbarger CA, Knepper MA. Ultrastructural localization of Na-K-2Cl cotransporter in thick ascending limb and macula densa of rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 1998;275(6):885-93.
63. Hebert SC, Mount DB, Gamba G. Molecular physiology of cation-coupled Cl⁻ cotransport: the SLC12 family. *Pflugers Archiv Eur J Physiol.* 2004;447(5):580-93.
64. Plata C, Mount DB, Rubio V, Hebert SC, Gamba G. Isoforms of the Na-K-2Cl cotransporter in murine TAL II. Functional characterization and activation by cAMP. *Am J Physiol Renal Physiol.* 1999;276(3):359-66.
65. Gimenez I, Isenring P, Forbush B. Spatially distributed alternative splice variants of the renal Na-K-Cl cotransporter exhibit dramatically different affinities for the transported ions. *J Biol Chem.* 2002;277(11):8767-70.
66. Hebert SC, Culpepper RM, Andreoli TE. NaCl transport in mouse medullary thick ascending limbs .2. ADH enhancement of trans-cellular nacl cotransport - origin of trans-epithelial voltage. *Am J Physiol.* 1981;241(4):432-42.
67. Hebert SC, Andreoli TE. Control of NaCl transport in the thick ascending limb. *Am J Physiol.* 1984;246(6):745-56.
68. 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 Na-K-2Cl cotransporter NKCC2. *Nat Genet* 1996;13(2):183-8.
69. Simon DB, Karet FE, RodriguezSoriano J, Hamdan JH, DiPietro A, Trachtman H, et al. Genetic heterogeneity of Bartter's syndrome revealed by mutations in the K⁺ channel, ROMK. *Nat Genet.* 1996;14(2):152-6.
70. Simon DB, Bindra RS, Mansfield TA, NelsonWilliams C, Mendonca E, Stone R, et al. Mutations in the chloride channel gene, CLCNKB, cause Bartter's syndrome type III. *Nat Genet.* 1997;17(2):171-8.
71. Birkenhager R, Otto E, Schurmann MJ, Vollmer M, Ruf EM, Maier-Lutz I, et al. Mutation of BSND causes Bartter syndrome with sensorineural deafness and kidney failure. *Nat Genet.* 2001;29(3):310-4.
72. Estevez R, Bottger T, Stein V, Birkenhager R, Otto E, Hildebrandt F, et al. Barttin is a Cl⁻ channel beta-subunit crucial for renal Cl⁻ reabsorption and inner ear K⁺ secretion. *Nature.* 2001;414(6863):558-61.
73. 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(13):1314-9.
74. Laghmani K, Beck BB, Yang S-S, Seaayfan E, Wenzel A, Reusch B, et al. Polyhydramnios, Transient Antenatal Bartter's Syndrome, and MAGED2 Mutations. *N Engl J Med.* 2016;374(19):1853-63.
75. Vargas-Poussou R, Huang CF, 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(9):2259-66.
76. Welling PA, Ho K. A comprehensive guide to the ROMK potassium channel: form and function in health and disease. *Am J of Physiol Renal Physiol.* 2009;297(4):849-63.
77. Stokes JB. Consequences of potassium recycling in the renal medulla - effects on ion-transport by the medullary thick ascending limb of henles loop. *J Clin Invest.* 1982;70(2):219-29.
78. Taniguchi J, Guggino WB. Membrane stretch - a physiological stimulator of ca²⁺-activated K⁺ channels in thick ascending limb. *Am J Physiol.* 1989;257(3):347-52.
79. Bleich M, Schlatter E, Greger R. The luminal k⁺ channel of the thick ascending limb of henle loop. *Pflugers Archiv.* 1990;415(4):449-60.
80. Wang WH. 2 Types of K⁺ channel in thick ascending limb of rat-kidney. *Am J Physiol.* 1994;267(4):599-605.

81. Burg MB, Green N. Function of thick ascending limb of henles loop. *Am J Physiol.* 1973;224(3):659-68.
82. Greger R. Ion-transport mechanisms in thick ascending limb of henles loop of mammalian nephron. *Physiol Rev.* 1985;65(3):760-97.
83. Greger R, Schlatter E. Presence of luminal K⁺, a prerequisite for active nacl transport in the cortical thick ascending limb of henles loop of rabbit kidney. *Pflugers Archiv.* 1981;392(1):92-4.
84. Liu W, Morimoto T, Kondo Y, Iinuma K, Uchida S, Sasaki S, et al. Analysis of NaCl transp rt in thin ascending limb of Henle's loop in CLC-K1 null mice. *Am J Physiol.* 2002;282(3):F451-F7.
85. Kobayashi K, Uchida S, Mizutani S, Sasaki S, Marumo F. Intrarenal and cellular localization of CLC-K2 protein in the mouse kidney. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12(7):1327-34.
86. Hou J, Renigunta A, Konrad M, Gornes AS, Schneeberger EE, Paul DL, et al. Claudin-16 and claudin-19 interact and form a cation-selective tight junction complex. *J Clin Invest.* 2008;118(2):619-28.
87. Hou JH, Renigunta A, Gomes AS, Hou ML, Paul DL, Waldegger S, et al. Claudin-16 and claudin-19 interaction is required for their assembly into tight junctions and for renal reabsorption of magnesium. *Proc Nat Aca Sci U S A.* 2009;106(36):15350-5.
88. Hou JH, Goodenough DA. Claudin-16 and claudin-19 function in the thick ascending limb. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension.* 2010;19(5):483-8.
89. Hou J, Rajagopal M, Yu ASL. Claudins and the Kidney. *Ann Rev Physiol, Vol 75.* 2013;75:479-501.
90. Hou JH, Paul DL, Goodenough DA. Paracellin-1 and the modulation of ion selectivity of tight junctions. *J Cell Sci.* 2005;118(21):5109-18.
91. Godron A, Harambat J, Boccio V, Mensire A, May A, Rigotherier C, et al. Familial Hypomagnesemia with Hypercalciuria and Nephrocalcinosis: Phenotype-Genotype Correlation and Outcome in 32 Patients with CLDN16 or CLDN19 Mutations. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2012;7(5):801-9.
92. Riccardi D, Brown EM. Physiology and pathophysiology of the calcium-sensing receptor in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010;298(3):F485-F99.
93. Gong Y, Himmerkus N, Plain A, Bleich M, Hou J. Epigenetic Regulation of MicroRNAs Controlling CLDN14 Expression as a Mechanism for Renal Calcium Handling. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(3):663-76.
94. Hebert SC. Extracellular calcium-sensing receptor: Implications for calcium and magnesium handling in the kidney. *Kidney Int.* 1996;50(6):2129-39.
95. Watanabe S, Fukumoto S, Chang HG, Takeuchi Y, Hasegawa Y, Okazaki R, et al. Association between activating mutations of calcium-sensing receptor and Bartter's syndrome. *Lancet.* 2002;360(9334):692-4.
96. Rinehart J, Kahle KT, de los Heros P, Vazquez N, Meade P, Wilson FH, et al. WNK3 kinase is a positive regulator of NKCC2 and NCC, renal cation-Cl⁻ cotransporters required for normal blood pressure homeostasis. *Proc Nat Aca Sci U S A.* 2005;102(46):16777-82.
97. Good DW. Sodium-dependent bicarbonate absorption by cortical thick ascending limb of rat-kidney. *Am J Physiology.* 1985;248(6):821-9.
98. Bourgeois S, Masse S, Paillard M, Houillier P. Basolateral membrane Cl⁻, Na⁺, and K⁺-coupled base transport mechanisms in rat MTALH. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2002;282(4):655-68.
99. Wang T, Hropot M, Aronson PS, Giebisch G. Role of NHE isoforms in mediating bicarbonate reabsorption along the nephron. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001;281(6):1117-22.
100. Good DW. Ammonium transport by the thick ascending limb of henles loop. *Ann Rev Physiol.* 1994;56:623-47.

101. Attmane-Elakeb A, Mount DB, Sibella V, Vernimmen C, Hebert SC, Bichara M. Stimulation by in vivo and in vitro metabolic acidosis of expression of rBSC-1, the Na⁺-K⁺(NH₄⁺)-2Cl⁻ cotransporter of the rat medullary thick ascending limb. *J Biol Chem.* 1998;273(50):33681-91.
102. Bourgeois S, Van Meer L, Wootla B, Bloch-Faure M, Chambrey R, Shull GE, et al. NHE4 is critical for the renal handling of ammonia in rodents. *J Clin Invest.* 2010;120(6):1895-904.
103. Reilly RF, Ellison DH. Mammalian distal tubule: Physiology, pathophysiology, and molecular anatomy. *Physiol Rev.* 2000;80(1):277-313.
104. Hierholzer K, Wiederholt M. Some aspects of distal tubular solute and water transport. *Kidney Int.* 1976;9(2):198-213.
105. Hamilton KL, Devor DC. Basolateral membrane K⁺ channels in renal epithelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2012;302(9):1069-81.
106. Reichold M, Zdebek AA, Lieberer E, Rapedius M, Schmidt K, Bandulik S, et al. KCNJ10 gene mutations causing EAST syndrome (epilepsy, ataxia, sensorineural deafness, and tubulopathy) disrupt channel function. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(32):14490-5.
107. Schultz SG. Homocellular regulatory mechanisms in sodium-transporting epithelia - an extension of the koefoed-johnsen-ussing model. *Semin Nephrol.* 1982;2(4):343-7.
108. Simon DB, NelsonWilliams C, Bia MJ, Ellison D, Karet FE, Molina AM, et al. Gitelman's variant of Bartter's syndrome, inherited hypokalaemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter. *Nat Genet.* 1996;12(1):24-30.
109. Scholl UI, Choi M, Liu T, Ramaekers VT, Haeusler MG, Grimmer J, et al. Seizures, sensorineural deafness, ataxia, mental retardation, and electrolyte imbalance (SeSAME syndrome) caused by mutations in KCNJ10. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(14):5842-7.
110. Bockenbauer D, Feather S, Stanescu HC, Bandulik S, Zdebek AA, Reichold M, et al. Epilepsy, Ataxia, Sensorineural Deafness, Tubulopathy, and KCNJ10 Mutations. *N Engl J Med.* 2009;360(19):1960-70.
111. Loffing J, Zecevic M, Feraille E, Kaissling B, Asher C, Rossier BC, et al. Aldosterone induces rapid apical translocation of ENaC in early portion of renal collecting system: possible role of SGK. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001;280(4):675-82.
112. Schmitt R, Ellison DH, Farman N, Rossier BC, Reilly RF, Reeves WB, et al. Developmental expression of sodium entry pathways in rat nephron. *Am J Physiol Renal Physiol.* 1999;276(3):F367-F81.
113. Wright FS. Increasing magnitude of electrical potential along renal distal tubule. *Am J Physiol.* 1971;220(3):624-638.
114. Hayslett JP, Boulpaep EL, Kashgarian M, Giebisch GH. Electrical characteristics of mammalian distal tubule-comparison of ling-gerard and macro-electrodes. *Kidney Int.* 1977;12(5):324-31.
115. Pacheco-Alvarez D, Cristobal PS, Meade P, Moreno E, Vazquez N, Munoz E, et al. The Na⁺: Cl⁻ cotransporter is activated and phosphorylated at the amino-terminal domain upon intracellular chloride depletion. *J Biol Chem.* 2006;281(39):28755-63.
116. Richardson C, Rafiqi FH, Karlsson HKR, Moleleki N, Vandewalle A, Campbell DG, et al. Activation of the thiazide-sensitive Na⁺-Cl⁻ cotransporter by the WNK-regulated kinases SPAK and OSR1. *J Cell Sci.* 2008;121(5):675-84.
117. Boyden LM, Choi M, Choate KA, Nelson-Williams CJ, Farhi A, Toka HR, et al. Mutations in kelch-like 3 and cullin 3 cause hypertension and electrolyte abnormalities. *Nature.* 2012;482(7383):98-102.

118. Louis-Dit-Picard H, Barc J, Trujillano D, Miserey-Lenkei S, Bouatia-Naji N, Pylypenko O, et al. KLHL3 mutations cause familial hyperkalemic hypertension by impairing ion transport in the distal nephron. *Nat Genet.* 2012;44(4):456-60.
119. Hadchouel J, Delaloy C, Faure S, Achard J-M, Jeunemaitre X. Familial hyperkalemic hypertension. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(1):208-17.
120. Mayan H, Vered I, Mouallem M, Tzadok-Witkon M, Pauzner R, Farfel Z. Pseudohypoaldosteronism type II: Marked sensitivity to thiazides, hypercalciuria, normomagnesemia, and low bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(7):3248-54.
121. Subramanya AR, Ellison DH. Distal Convoluted Tubule. *Clin J o Am Soc Nephrol.* 2014;9(12):2147-63.
122. Hoenderop JGJ, van der Kemp A, Hartog A, van de Graaf SFJ, van Os CH, Willems P, et al. Molecular identification of the apical Ca²⁺ channel in 1,25-dihydroxyvitamin D-3-responsive epithelia. *J Biol Chem.* 1999;274(13):8375-8.
123. Glaudemans B, van der Wijst J, Scola RH, Lorenzoni PJ, Heister A, van der Kemp AW, et al. A missense mutation in the Kv1.1 voltage-gated potassium channel-encoding gene KCNA1 is linked to human autosomal dominant hypomagnesemia. *J Clin Invest.* 2009;119(4):936-42.
124. Geller DS, Rodriguez-Soriano J, Boado AV, Schifter S, Bayer M, Chang SS, et al. Mutations in the mineralocorticoid receptor gene cause autosomal dominant pseudohypoaldosteronism type I. *Nat Genet.* 1998;19(3):279-81.
125. Bosson D, Kuhnle U, Mees N, Ramet J, Vamos E, Vertongen F, et al. Generalized unresponsiveness to mineralocorticoid hormones-familial recessive pseudohypoaldosteronism due to aldosterone-receptor deficiency. *Acta Endocrinol.* 1986;113:376-80.
126. Koeppen BM. Electrophysiological identification of principal and intercalated cells in the rabbit outer medullary collecting duct. *Pflugers Archiv.* 1987;409(1-2):138-41.
127. Palmer LG, Patel A, Frindt G. Regulation and dysregulation of epithelial Na⁺ channels. *Clin Exp Nephrol.* 2012;16(1):35-43.
128. Frindt G, Ergonul Z, Palmer LG. Surface expression of epithelial Na channel protein in rat kidney. *J General Physiol.* 2008;131(6):617-27.
129. Wang W-H, Giebisch G. Regulation of potassium (K) handling in the renal collecting duct. *Pflugers Archiv.* 2009;458(1):157-68.
130. Schuster VL, Stokes JB. Chloride transport by the cortical and outer medullary collecting duct. *Am J Physiol.* 1987;253(2):F203-F11.
131. Rajpoot SK, Maggi C, Bhangoo A. Pseudohypoaldosteronism in a neonate presenting as life-threatening arrhythmia. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep.* 2014. doi: 10.1530/EDM-13-0077
132. Walker BR, Andrew R, Escoubet B, Zennaro M-C. Activation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in Adults With Mineralocorticoid Receptor Haploinsufficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(8):1586-91.
133. Escoubet B, Couffignal C, Laisy J-P, Mangin L, Chillon S, Laouenan C, et al. Cardiovascular Effects of Aldosterone: Insight From Adult Carriers of Mineralocorticoid Receptor Mutations. *Circ Cardiovasc Genet.* 2013;6(4):381-90.
134. Deen PMT, Weghuis DO, Sinke RJ, Vankessel AG, Wieringa B, Vanos CH. Assignment of the human gene for the water channel of renal collecting duct aquaporin-2 (AQP2) to chromosome-12 region q12- q13. *Cytogenet Cell Genet.* 1994;66(4):260-2.
135. Rosenthal W, Seibold A, Antaramian A, Lonergan M, Arthus MF, Hendy GN, et al. Molecular-identification of the gene responsible for congenital nephrogenic diabetes-insipidus. *Nature.* 1992;359(6392):233-5.

136. Robben JH, Knoers NVAM, Deen PMT. Cell biological aspects of the vasopressin type-2 receptor and aquaporin 2 water channel in nephrogenic diabetes insipidus. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2006;291(2):257-70.
137. Loonen AJM, Knoers NVAM, van Os CH, Deen PMT. Aquaporin 2 mutations in nephrogenic diabetes insipidus. *Semin Nephrol*. 2008;28(3):252-65.
138. Alper SL, Natale J, Gluck S, Lodish HF, Brown D. Subtypes of intercalated cells in rat-kidney collecting duct defined by antibodies against erythroid band-3 and renal vacuolar H⁺-ATPase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86(14):5429-33.
139. Batlle D, Haque SK. Genetic causes and mechanisms of distal renal tubular acidosis. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27(10):3691-704.
140. Royaux IE, Wall SM, Karniski LP, Everett LA, Suzuki K, Knepper MA, et al. Pendrin, encoded by the Pendred syndrome gene, resides in the apical region of renal intercalated cells and mediates bicarbonate secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(7):4221-6.
141. Hentschke M, Hentschke S, Borgmeyer U, Huebner CA, Kurth I. The murine AE4 promoter predominantly drives type B intercalated cell specific transcription. *Histochem Cell Biol*. 2009;132(4):405-12.
142. Mohebbi N, Perna A, van der Wijst J, Becker HM, Capasso G, Wagner CA. Regulation of Two Renal Chloride Transporters, AE1 and Pendrin, by Electrolytes and Aldosterone. *Plos One*. 2013;8(1). doi: 10.1371/journal.pone.0055286
143. Kim YH, Pech V, Spencer KB, Beierwaltes WH, Everett LA, Green ED, et al. Reduced ENaC protein abundance contributes to the lower blood pressure observed in pendrin-null mice. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007;293(4):1314-24.
144. Chaimovitz C, Levi J, Better OS, Oslander L, Benderli A. Studies on site of renal salt loss in a patient with Bartter's syndrome. *Pediatr Res*. 1973;7(2):89-94.
145. Uribarri J, Alveranga D, Oh MS, Kukar NM, Delmonte ML, Carroll HJ. Bartter's syndrome due to a defect in salt reabsorption in the distal convoluted tubule. *Nephron*. 1985;40(1):52-6.
146. Kockerling 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*. 1996;129(4):519-28.
147. Unwin RJ, Capasso G. Bartter's and Gitelman's syndromes: their relationship to the actions of loop and thiazide diuretics. *Curr Opin Pharmacol*. 2006;6(2):208-13.
148. Reinalter SC, Jeck N, Peters M, Seyberth HW. Pharmacotyping of hypokalaemic salt-losing tubular disorders. *Acta Physiol Scand*. 2004;181(4):513-21.
149. Seyberth HW. An improved terminology and classification of Bartter-like syndromes. *Nat Clin Pract Nephrol*. 2008;4(10):560-7.
150. Ellison DH. Adaptation in Gitelman Syndrome: "We Just Want to Pump You Up". *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(3):379-82.
151. Chadha V, Alon US. Hereditary Renal Tubular Disorders. *Semin Nephrol*. 2009;29(4):399-411.
152. Nozu K, Iijima K, Kanda K, Nakanishi K, Yoshikawa N, Satomura K, et al. The Pharmacological Characteristics of Molecular-Based Inherited Salt-Losing Tubulopathies. *J Clin Endocr Metab*. 2010;95(12):511-8.
153. Cruz AJ, Castro A. Gitelman or Bartter type 3 syndrome? A case of distal convoluted tubulopathy caused by CLCNKB gene mutation. *BMJ case reports*. 2013;2013.
154. Legrand A, Treard C, Roncelin I, Dreux S, Bertholet-Thomas A, Broux F, et al. Prevalence of Novel MAGED2 Mutations in Antenatal Bartter Syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2018;13(2):242-50.

155. Seyberth HW. Pathophysiology and clinical presentations of salt-losing tubulopathies. *Pediatr Nephrol.* 2016;31(3):407-18.
156. Bartter FC, Pronove P, Gill JR, MacCardle RC, Diller E. Hyperplasia of the juxtaglomerular complex with hyperaldosteronism and hypokalemic alkalosis - A new syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 1998;9(3):516-28.
157. 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(4):454-9.
158. James T, Holland NH, Preston D. BARTter syndrome - typical facies and normal plasma-volume. *American J Dis Child.* 1975;129(10):1205-7.
159. Camacho AM, Blizzard RM. Congenital hypokalemia of probable renal origin - a newly described entity due to an inherited metabolic defect. *Am J Dis Child.* 1962;103(4):535-555.
160. Gitelman HJ, Graham JB, Welt LG. A new familial disorder characterized by hypokalemia and hypomagnesemia. *Trans Assoc Am Physicians.* 1966;79:221-35.
161. Vezzoli G, Arcidiacono T, Paloschi V, Terranegra A, Biasion P, Weber G, et al. Autosomal dominant hypocalcemia with mild type 5 Bartter syndrome. *J Nephrol.* 2006;19(4):525-8.
162. Konrad M, Nijenhuis T, Ariceta G, Bertholet-Thomas A, Calo LA, Capasso G, et al. Diagnosis and management of Bartter syndrome: executive summary of the consensus and recommendations from the European Rare Kidney Disease Reference Network Working Group for Tubular Disorders. *Kidney Int.* 2021;99(2):324-35.
163. Peters M, Jeck N, Reinalter S, Leonhardt A, Tonshoff B, Klaus G, et al. Clinical presentation of genetically defined patients with hypokalemic salt-losing tubulopathies. *Am J Med.* 2002;112(3):183-90.
164. Cheng CJ, Lo YF, Chen JC, Huang CL, Lin SH. Functional severity of CLCNKB mutations correlates with phenotypes in patients with classic Bartter's syndrome. *J Physiol.* 2017;595(16):5573-86.
165. Palmer LG, Schnermann J. Integrated Control of Na Transport along the Nephron. *Clinical Journal of the Am Soc Nephrol.* 2015;10(4):676-87.
166. Seyberth HW, Schlingmann KP. Bartter- and Gitelman-like syndromes: salt-losing tubulopathies with loop or DCT defects. *Pediatr Nephrol.* 2011;26(10):1789-802.
167. Schnermann J. The juxtaglomerular apparatus: From anatomical peculiarity to physiological relevance. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(6):1681-94.
168. Peti-Peterdi J, Harris RC. Macula Densa Sensing and Signaling Mechanisms of Renin Release. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(7):1093-6.
169. Deng AH, Wead LM, Blantz RC. Temporal adaptation of tubuloglomerular feedback: Effects of COX-2. *Kidney Int.* 2004;66(6):2348-53.
170. Komhoff M, Grone HJ, Klein T, Seyberth HW, Nusing RM. Localization of cyclooxygenase-1 and -2 in adult and fetal human kidney: Implication for renal function. *Am J Physiol.* 1997;272(4):460-8.
171. Jeck N, Schlingmann KP, Reinalter SC, Komhoff M, Peters M, Waldegger S, et al. Salt handling in the distal nephron: lessons learned from inherited human disorders. *Am J Physiol.* 2005;288(4):782-95.
172. Nusing RM, Seyberth HW. The role of cyclooxygenases and prostanoid receptors in furosemide-like salt losing tubulopathy: the hyperprostaglandin E syndrome. *Acta Physiol Scand.* 2004;181(4):523-8.
173. Nusing RM, Treude A, Weissenberger C, Jensen B, Bek M, Wagner C, et al. Dominant role of prostaglandin E-2 EP4 receptor in furosemide-induced salt-losing tubulopathy: A model for hyperprostaglandin E syndrome/antenatal Bartter syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(8):2354-62.

174. Nielsen S, Frokiaer J, Marples D, Kwon TH, Agre P, Knepper MA. Aquaporins in the kidney: From molecules to medicine. *Physiol Rev.* 2002;82(1):205-44.
175. Bichet DG. Nephrogenic diabetes-insipidus. *Semin Nephrol.* 1994;14(4):349-56.
176. Colussi G, Bettinelli A, Tedeschi S, De Ferrari ME, Syren ML, Borsa N, et al. A thiazide test for the diagnosis of renal tubular hypokalemic disorders. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007;2(3):454-60.
177. Van Angelen AA, van der Kemp AW, Hoenderop JG, Bindels RJ. Increased expression of renal TRPM6 compensates for Mg(2+) wasting during furosemide treatment. *Clin Kidney J.* 2012;5(6):535-44.
178. Andrini O, Keck M, Briones R, Lourdel S, Vargas-Poussou R, Teulon J. CIC-K chloride channels: emerging pathophysiology of Bartter syndrome type 3. *Am J Physiol.* 2015;308(12):F1324-F34.
179. Seys E, Andrini O, Keck M, Mansour-Hendili L, Courand P-Y, Simian C, et al. Clinical and Genetic Spectrum of Bartter Syndrome Type 3. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(8):2540-52.
180. Zaika O, Tomilin V, Mamenko M, Bhalla V, Pochynyuk O. New perspective of CIC-Kb/2 Cl- channel physiology in the distal renal tubule. *Ame Jo Physiol.* 2016;310(10):P923-P30.
181. Hennings JC, Andrini O, Picard N, Paulais M, Huebner AK, Lopez Cayuqueo IK, et al. The CIC-K2 Chloride Channel Is Critical for Salt Handling in the Distal Nephron. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(1):209-17.
182. Blanchard A, Bockenhauer D, Bolignano D, Calo LA, Cosyns E, Devuyst O, et al. Gitelman syndrome: consensus and guidance from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int.* 2017;91(1):24-33.
183. Monnens L, Bindels R, Grunfeld JP. Gitelman syndrome comes of age. *Nephrol Dial Transplant.* 1998;13(7):1617-9.
184. Bettinelli A, Bianchetti MG, Girardin E, Caringella A, Cecconi M, Appiani AC, et al. Use of calcium excretion values to distinguish 2 forms of primary renal tubular hypokalemic alkalosis - Bartter and Gitelman syndromes. *J Pediatr.* 1992;120(1):38-43.
185. Cruz DN, Shaer AJ, Bia MJ, Lifton RP, Simon DB, Yale Gitelmans Bartters S. Gitelman's syndrome revisited: An evaluation of symptoms and health-related quality of life. *Kidney Int.* 2001;59(2):710-7.
186. Favre GA, Nau V, Kolb I, Vargas-Poussou R, Hannedouche T, Moulin B. Localization of Tubular Adaptation to Renal Sodium Loss in Gitelman Syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2012;7(3):472-8.
187. Konrad M, Vollmer M, Lemmink HH, Van den Heuvel L, Jeck N, Vargas-Poussou R, et al. Mutations in the chloride channel gene CLCNKB as a cause of classic Bartter syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2000;11(8):1449-59.
188. Kraemer BK, Bergler T, Stoelcker B, Waldegger S. Mechanisms of Disease: the kidney-specific chloride channels CICKA and CICKB, the Barttin subunit, and their clinical relevance. *Nat Clin Pract Nephrol.* 2008;4(1):38-46.
189. Brochard K, Boyer O, Blanchard A, Loirat C, Niaudet P, Macher M-A, et al. Phenotype-genotype correlation in antenatal and neonatal variants of Bartter syndrome. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24(5):1455-64.
190. Kobayashi K, Uchida S, Okamura HO, Marumo F, Sasaki S. Human CLC-KB gene promoter drives the EGFP expression in the specific distal nephron segments and inner ear. *Journal of the Am Soc of Nephrol.* 2002;13(8):1992-8.
191. Izzedine H, Tankere F, Launay-Vacher V, Deray G. Ear and kidney syndromes: Molecular versus clinical approach. *Kidney Int.* 2004;65(2):369-85.
192. Heilberg IP, Totoli C, Calado JT. Adult presentation of Bartter syndrome type IV with erythrocytosis. *Einstein-Sao Paulo.* 2015;13(4):604-6.

193. Bettinelli A, Borsa N, Bellantuono R, Syren M-L, Calabrese R, Edefonti A, et al. Patients with biallelic mutations in the chloride channel gene *CLCNKB*: Long-term management and outcome. *Am J Kidney Dis*. 2007;49(1):91-8.
194. Lee BH, Cho HY, Lee H, Han KH, Kang HG, Ha IS, et al. Genetic basis of Bartter syndrome in Korea. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27(4):1516-21.
195. Walsh PR, Tse Y, Ashton E, Iancu D, Jenkins L, Bienias M, et al. Clinical and diagnostic features of Bartter and Gitelman syndromes. *Clin Kidney J*. 2018;11(3):302-9.
196. Castano AG, de Nancrales GP, Madariaga L, Aguirre M, Madrid A, Chocron S, et al. Poor phenotype-genotype association in a large series of patients with Type III Bartter syndrome. *Plos One*. 2017;12(3). doi: 10.1371/journal.pone.0173581
197. Pachulski RT, Lopez F, Sharaf R. Gitelman's not-so-benign syndrome. *N Engl J Med*. 2005;353(8):850-1.
198. Koemhoff M, Laghmani K. Pathophysiology of antenatal Bartter's syndrome. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2017;26(5):419-25.
199. Puricelli E, Bettinelli A, Borsa N, Sironi F, Mattiello C, Tammaro F, et al. Long-term follow-up of patients with Bartter syndrome type I and II. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(9):2976-81.
200. Linshaw MA. Potassium homeostasis and hypokalemia. *Pediatr Clin North Am*. 1987;34(3):649-81.
201. Schaefer TJ, Wolford RW. Disorders of potassium. *Emerg Med Clin North Am*. 2005;23(3):723-747.
202. Cortesi C, Lava SAG, Bettinelli A, Tammaro F, Giannini O, Caiata-Zufferey M, et al. Cardiac arrhythmias and rhabdomyolysis in Bartter-Gitelman patients. *Pediatr Nephrol*. 2010;25(10):2005-8.
203. Cortesi C, Bettinelli A, Emma F, Fischbach M, Bertolani P, Bianchetti MG. Severe syncope and sudden death in children with inborn salt-losing hypokalaemic tubulopathies. *Nephrol Dial Transplant*. 2005;20(9):1981-3.
204. Von Vigier RO, Ortisi MT, La Manna A, Bianchetti MG, Bettinelli A. Hypokalemic rhabdomyolysis in congenital tubular disorders: a case series and a systematic review. *Pediatr Nephrol*. 2010;25(5):861-6.
205. Nissant A, Paulais M, Lachheb S, Lourdel S, Teulon J. Similar chloride channels in the connecting tubule and cortical collecting duct of the mouse kidney. *Am J Physiol*. 2006;290(6):F1421-F9.
206. Lourdel S, Paulais M, Marvao P, Nissant A, Teulon J. A chloride channel at the basolateral membrane of the distal-convoluted tubule: a candidate *ClC-K* channel. *J Gen Physiol*. 2003;121(4):287-300.
207. Wedenoja S, Høglund P, Holmberg C. Review article: the clinical management of congenital chloride diarrhoea. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2010;31(4):477-85.
208. Kose M, Pekcan S, Ozcelik U, Cobanoglu N, Yalcin E, Dogru D, et al. An epidemic of pseudo-Bartter syndrome in cystic fibrosis patients. *Eur J Pediatr*. 2008;167(1):115-6.
209. Devlin J, Beckett NS, David TJ. Elevated sweat potassium, hyper-aldosteronism and pseudo-bartters syndrome - a spectrum of disorders associated with cystic-fibrosis. *J R Soc Med*. 1989;82:38-43.
210. Kintu B, Brightwell A. Episodic Seasonal Pseudo-Bartter Syndrome in Cystic Fibrosis. *Paediatr Res Rev*. 2014;15:19-21.
211. Adalat S, Hayes WN, Bryant WA, Booth J, Woolf AS, Kleta R, et al. *HNF1B* Mutations Are Associated With a Gitelman-like Tubulopathy That Develops During Childhood. *Kidney Int Rep*. 2019;4(9):1304-11.
212. Bongers EMHF, Shelton LM, Milatz S, Verkaart S, Bech AP, Schoots J, et al. A Novel Hypokalemic-Alkalotic Salt-Losing Tubulopathy in Patients with *CLDN10* Mutations. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(10):3118-28.

213. Hadj-Rabia S, Brideau G, Al-Sarraj Y, Maroun RC, Figueres M-L, Leclerc-Mercier S, et al. Multiplex epithelium dysfunction due to CLDN10 mutation: the HELIX syndrome. *Genet Med*. 2018;20(2):190-201.
214. Palmer BF, Alpern RJ. Liddle's syndrome. *Am J Med*. 1998;104(3):301-9.
215. Bockenhauer D, Bichet DG. Nephrogenic diabetes insipidus. *Curr Opin Pediatr*. 2017;29(2):199-205.
216. Devuyst O, Christie PT, Courtoy PJ, Beauwens R, Thakker RV. Intra-renal and subcellular distribution of the human chloride channel, CLC-5, reveals a pathophysiological basis for Dent's disease. *Hum Mol Genet*. 1999;8(2):247-57.
217. De Matteis MA, Staiano L, Emma F, Devuyst O. The 5-phosphatase OCRL in Lowe syndrome and Dent disease 2. *Nat Rev Nephrol*. 2017;13(8):455-70.
218. Devuyst O, Thakker RV. Dent's disease. *Orphanet J Rare Dis*. 2010;5(1):28-34.
219. Bogdanovic R, Draaken M, Toromanovic A, Dordevic M, Stajic N, Ludwig M. A novel CLCN5 mutation in a boy with Bartter-like syndrome and partial growth hormone deficiency. *Pediatr Nephrol*. 2010;25(11):2363-8.
220. Wrong OM, Norden AGW, Feest TG. Dents disease - a familial proximal renal tubular syndrome with low-molecular-weight proteinuria, hypercalciuria, nephrocalcinosis, metabolic bone-disease, progressive renal-failure and a marked male predominance. *QJM*. 1994;87(8):473-93.
221. Okamoto T, Tajima T, Hirayama T, Sasaki S. A patient with Dent disease and features of Bartter syndrome caused by a novel mutation of CLCN5. *Eur J Pediatr*. 2012;171(2):401-4.
222. Blanchard A, Curis E, Guyon-Roger T, Kahila D, Treard C, Baudouin V, et al. Observations of a large Dent disease cohort. *Kidney Int*. 2016;90(2):430-9.
223. MacKay DF, Smith GCS, Dobbie R, Pell JP. Gestational Age at Delivery and Special Educational Need: Retrospective Cohort Study of 407,503 Schoolchildren. *Plos Medicine*. 2010;7(6).
224. Bhat YR, Vinayaka G, Vani R, Prashanth KA, Sreelakshmi K. Antenatal Bartter syndrome: a rare cause of unexplained severe polyhydramnios. *Ann Trop Paediatr*. 2011;31(2):153-7.
225. Dane B, Dane C, Aksoy F, Cetin A, Yayla M. Antenatal bartter syndrome: Analysis of Two Cases with Placental Findings. *Fetal Pediatr Pathol*. 2010;29(3):121-6.
226. Konrad M, Leonhardt A, Hensen P, Seyberth HW, Kockerling A. Prenatal and postnatal management of hyperprostaglandin E syndrome after genetic diagnosis from amniocytes. *Pediatrics*. 1999;103(3):678-83.
227. Leung WC, Jouannic JM, Hyett J, Rodeck C, Jauniaux E. Procedure-related complications of rapid amniodrainage in the treatment of polyhydramnios. *Ultrasound Obst Gynecol*. 2004;23(2):154-8.
228. Elliott JP, Sawyer AT, Radin TG, Strong RE. Large-volume therapeutic amniocentesis in the treatment of hydramnios. *Obstet Gynecol*. 1994;84(6):1025-7.
229. Moise KJ. Polyhydramnios. *Clin Obstet Gynecol*. 1997;40(2):266-79.
230. Kleta R, Bockenhauer D. Bartter syndromes and other salt-losing tubulopathies. *Nephron Physiol*. 2006;104(2):73-80.
231. Dillon MJ, Shah V, Mitchell MD. Bartters-syndrome - 10 cases in childhood - results of long-term indomethacin therapy. *QJM*. 1979;48(191):429-46.
232. Littlewood JM, Lee MR, Meadow SR. Treatment of childhood bartters-syndrome with indomethacin. *Lancet*. 1976;2(7989):795.

233. Littlewood JM, Lee MR, Meadow SR. Treatment of batters syndrome in early-childhood with prostaglandin synthetase inhibitors. *Arch Dis Child*. 1978;53(1):43-8.
234. Seidel C, Reinalter S, Seyberth HW, Scharer K. Pre-pubertal growth in the hyperprostaglandin E syndrome. *Pediatr Nephrol*. 1995;9(6):723-8.
235. Vaisbich MH, Fujimura MD, Koch VH. Bartter syndrome: benefits and side effects of long-term treatment. *Pediatr Nephrol*. 2004;19(8):858-63.
236. Marlow N, Chiswick ML. Neonatal bartters-syndrome, indomethacin and necrotizing enterocolitis. *Act Paediatr Scand*. 1982;71(6):1031-2.
237. Mackay JD, Bladon PT. Hypomagnesaemia due to proton-pump inhibitor therapy: a clinical case series. *QJM*. 2010;103(6):387-95.
238. Bennett WM, Debroe ME. Analgesic nephropathy - a preventable renal-disease. *N Engl J Med*. 1989;320(19):1269-71.
239. Reinalter SC, Grone HJ, Konrad M, Seyberth HW, Klaus G. Evaluation of long-term treatment with indomethacin in hereditary hypokalemic salt-losing tubulopathies. *J Pediatr*. 2001;139(3):398-406.
240. Dogne JM, Hanson J, Supuran C, Pratico D. Coxibs and cardiovascular side-effects: From light to shadow. *Curr Pharm Des*. 2006;12(8):971-5.
241. Falkner B, Berger M, Brown PB, Iorga D, Nickeson RW, Zemel L. The Effects of Celecoxib or Naproxen on Blood Pressure in Pediatric Patients with Juvenile Idiopathic Arthritis. *Clin Med Insights Pediatr*. 2015;9:55-62.
242. Pena Nascimento CL, Garcia CL, Soares Schvartsman BG, Vaisbich MH. Treatment of Bartter syndrome. Unsolved issue. *Jornal De Pediatria*. 2014;90(5):512-7.
243. Morales JM, Ruilope LM, Praga M, Coto A, Alcazar JM, Prieto C, et al. Long-term enalapril therapy in bartters-syndrome. *Nephron*. 1988;48(4):327.
244. Clementsen P, Hoegholm A, Hansen CL, Damkjaer M, Christensen P, Giese J. Bartters-syndrome - treatment with potassium, spironolactone and ace-inhibitor. *J Internal Med*. 1989;225(2):107-10.
245. Plumb LA, van't Hoff W, Kleta R, Reid C, Ashton E, Samuels M, et al. Renal apnoea: extreme disturbance of homoeostasis in a child with Bartter syndrome type IV. *Lancet*. 2016;388(10044):631-2.
246. Jentsch TJ, Steinmeyer K, Schwarz G. Primary structure of Torpedo marmorata chloride channel isolated by expression cloning in Xenopus oocytes. *Nature*. 1990;348(6301):510-4.
247. Jentsch TJ. CLC chloride channels and transporters: from genes to protein structure, pathology and physiology. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2008;43(1):3-36.
248. Uchida S, Sasaki S. Function of chloride channels in the kidney. *Ann Rev Physiology*. 2005;67:759-78.
249. Stoelting G, Fischer M, Fahlke C. CLC channel function and dysfunction in health and disease. *Front Physiol*. 2014;5.
250. Dutzler R, Campbell EB, Cadene M, Chait BT, MacKinnon R. X-ray structure of a ClC chloride channel at 3.0 Å reveals the molecular basis of anion selectivity. *Nature*. 2002;415(6869):287-94.
251. Jentsch TJ, Stein V, Weinreich F, Zdebek AA. Molecular structure and physiological function of chloride channels. *Physiol Rev*. 2002;82(2):503-68.
252. Estevez R, Pusch M, Ferrer-Costa C, Orozco M, Jentsch TJ. Functional and structural conservation of CBS domains from CLC chloride channels. *J Physiol*. 2004;557(2):363-78.

253. Dutzler R. A structural perspective on ClC channel and transporter function. *Febs Letters*. 2007;581(15):2839-44.
254. Accardi A, Picollo A. CLC channels and transporters: Proteins with borderline personalities. *Biochim BiophysActa*. 2010;1798(8):1457-64.
255. Kieferle S, Fong PY, Bens M, Vandewalle A, Jentsch TJ. 2 HIGHLY Homologous members of the clc chloride channel family in both rat and human kidney. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(15):6943-7.
256. Matsumura Y, Uchida S, Kondo Y, Miyazaki H, Ko SBH, Hayama A, et al. Overt nephrogenic diabetes insipidus in mice lacking the CLC-K1 chloride channel. *Nat Genet* 1999;21(1):95-8.
257. Garcia Castano A, de Nanclares GP, Madariaga L, Aguirre M, Madrid A, Nadal I, et al. Genetics of Type III Bartter Syndrome in Spain, Proposed Diagnostic Algorithm. *Plos One*. 2013;8(9). doi: 10.1371/journal.pone.0074673.
258. Rodriguez-Soriano J, Vallo A, de Nanclares GP, Bilbao JR, Castano L. A founder mutation in the CLCNKB gene causes Bartter syndrome type III in Spain. *Pediatr Nephrol*. 2005;20(7):891-6.
259. Najafi M, Kordi-Tamandani DM, Behjati F, Sadeghi-Bojd S, Bakey Z, Karimiani EG, et al. Mimicry and well known genetic friends: molecular diagnosis in an Iranian cohort of suspected Bartter syndrome and proposition of an algorithm for clinical differential diagnosis. *Orphanet J Rare Dis*. 2019;14.
260. Bignon Y, Sakhi I, Bitam S, Bakouh N, Keck M, Frachon N, et al. Analysis of CLCNKB mutations at dimer-interface, calcium-binding site, and pore reveals a variety of functional alterations in ClC-Kb channel leading to Bartter syndrome. *Hum Mutat*. 2020;41(4):774-85.
261. Andrini O, Keck M, L'Hoste S, Briones R, Mansour-Hendili L, Grand T, et al. CLCNKB mutations causing mild Bartter syndrome profoundly alter the pH and Ca²⁺ dependence of ClC-Kb channels. *Pflugers Archiv*. 2014;466(9):1713-23.
262. Blethen SL, Vanwyk JJ, Lorentz WB, Jennette JC. Reversal of Bartter's syndrome by renal-transplantation in a child with focal, segmental glomerular sclerosis. *Am J Med Sci*. 1985;289(1):31-6.
263. Kim JY, Kim GA, Song JH, Lee SW, Han JY, Lee JS, et al. A case of living-related kidney transplantation in Bartter's syndrome. *Yonsei Med J*. 2000;41(5):662-5.
264. Lee SE, Han KH, Jung YH, Lee HK, Kang HG, Moon KC, et al. Renal transplantation in a patient with Bartter syndrome and glomerulosclerosis. *Korean J Pediatr*. 2011;54(1):36-9.
265. Rudin A. Bartter's syndrome - a review of 28 patients followed for 10 years. *J Clin Anesth*. 1993;5(4):324.
266. Takahashi M, Yanagida N, Okano M, Ishizaki A, Meguro J, Kukita K, et al. A first report: Living related kidney transplantation on a patient with Bartter's syndrome. *Transplant Proc*. 1996;28(3):1588-.
267. Brown NJ. Contribution of aldosterone to cardiovascular and renal inflammation and fibrosis. *Nature Rev Nephrol*. 2013;9(8):459-69.
268. Thomas MC, Cooper ME. Blockade of the renin-angiotensin system: Better late than never. *Am J Kidney Dis*. 2004;43(6):1113-5.
269. Sadoshima J. Cytokine actions of angiotensin II. *Circ Res*. 2000;86(12):1187-9.
270. Walsh SB, Unwin E, Vargas-Poussou R, Houillier P, Unwin R. Does hypokalaemia cause nephropathy? an observational study of renal function in patients with Bartter or Gitelman syndrome. *QJM*. 2011;104(11):939-44.
271. Lindsley CB, Warady BA. Nonsteroidal antiinflammatory drugs - renal toxicity - review of pediatric issues. *Clin Pediatr*. 1990;29(1):10-3.

272. Perneger TV, Whelton PK, Klag MJ. Risk of kidney failure associated with the use of acetaminophen, aspirin, and nonsteroidal antiinflammatory drugs. *N Engl J Med*. 1994;331(25):1675-9.
273. Henrich WL, Agodoa LE, Barrett B, Bennett WM, Blantz RC, Buckalew VM, et al. Analgesics and the kidney: Summary and recommendations to the scientific advisory board of the National Kidney Foundation from an Ad Hoc committee of the National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis*. 1996;27(1):162-5.
274. Michelle C Starr , Sangeeta R Hingorani. Prematurity and future kidney health: the growing risk of chronic kidney disease. *Curr Opin Pediatr*. 2018; 30(2): 228–235.
275. Barker DJP, Thornburg KL. Placental programming of chronic diseases, cancer and lifespan: A review. *Placenta*. 2013;34(10):841-5.
276. George T Mandy MD. Long-term outcome of the preterm infant. In: UpToDate, Leonard E Weisman, Melanie S Kin (Ed), UpToDate, Waltham, MA, 2019. Disponible en: <http://www.uptodate.com/>.
277. Delgado P MJ, Rodríguez-Alarcón J, Linares A, Fernández-Llébraz L, Barbazán MJ, Ocerin I, Aranguren G. Curvas de desarrollo fetal de los recién nacidos en el Hospital de Cruces (Vizcaya). I. Peso. *An Esp Pediatr* 1996;44:50-54.
278. Delgado P MJ, Rodríguez-Alarcón J, Linares A, Fernández-Llébraz L, Barbazán MJ, Ocerin I, Aranguren. II. Longitud, perímetro cefálico e índice ponderal. *An Esp Pediatr* 1996; 44: 55-59.
279. Daniel G Bichet MD. Evaluation of patients with poliuria. In: UpToDate, Richard,H Stems, Michael Emmet (Ed), UpToDate, Waltham, MA, 2020. Disponible en: <http://www.uptodate.com/>.
280. Barakat AY (ed). *Renal Disease in Children. Clinical Evaluation and Diagnosis*. New York: Springer-Verlag; 1990.
281. B. Sobradillo, A. Aguirre, U. Aresti, A. Bilbao, C. Fernández-Ramos, et al. Curvas y tablas de crecimiento. Estudios longitudinal y transversal. Fundación Faustino Orbegozo.2004.
282. Hernández M, Castellet J, Narvaiza JL, Rincón JM, Ruiz I, Sánchez E, Sobradillo B, Zurimendi A. Curvas y tablas de crecimiento (0-18 años). Instituto de Investigación sobre Crecimiento y Desarrollo. Fundación Faustino Orbegozo. Bilbao: Editorial Garsi. 1988: 1-32.
283. Tanner JM *Foetus into Man: Physical Growth from Conception to Maturity*. 2a ed. Cambridge, MA: Harvard University Press. 1989.
284. Haque IU, Zaritsky AL. Analysis of the evidence for the lower limit of systolic and mean arterial pressure in children. *Pediatr Crit Care Med*. 2007;8(2):138-44.
285. Kleinman ME, Chameides L, Schexnayder SM, Samson RA, Hazinski MF, Atkins DL, et al. Pediatric advanced life support: 2010 American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. *Pediatrics*. 2010;126(5):e1361-99.
286. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE, Drazner MH, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(16):147-239.
287. Seshadri RM, Klein JD, Smith T, Sands JM, Handlogten ME, Verlander JW, et al. Changes in subcellular distribution of the ammonia transporter, Rhcg, in response to chronic metabolic acidosis. *American Journal of Physiol Renal Physiol*. 2006;290(6):F1443-F52.
288. Schwartz GJ, Muñoz A, Schneider MF, Mak RH, Kaskel F, Warady BA, et al. New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20(3):629-37.
289. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang Y, Castro AF, III, Feldman HI, et al. A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. *Ann Internal Med*. 2009;150(9):604-12.

290. KDIGO 2012. Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl.* 2013;3. doi:10.1038/kisup.2012.73.
291. Carmody JB. Focus on diagnosis Urine Electrolytes. *Pediatr Rev.* 2011;32(2):65-8.
292. Raquel Gil Gómez, Guillermo Milano Manso. Electrolitos urinarios. *An Pediatr Contin.* 2014;12(3):133-6.
293. Houser M. Assessment of proteinuria using random urine samples. *J Pediatr.* 1984;104(6):845-8.
294. Houser MT, Jahn MF, Kobayashi A, Walburn J. Assessment of urinary protein excretion in the adolescent - effect of body position and exercise. *J Pediatr.* 1986;109(3):556-61.
295. Huang Y, Yang X, Zhang Y, Yue S, Mei X, Bi L, et al. Correlation of urine protein/creatinine ratios to 24-h urinary protein for quantitating proteinuria in children. *Pediatr Nephrol.* 2020;35(3):463-8.
296. Schwab SJ, Christensen RL, Dougherty K, Klahr S. Quantitation of proteinuria by the use of protein-to-creatinine ratios in single urine samples. *Archives of Internal Medicine.* 1987;147(5):943-4.
297. Ghazali S, Barratt TM. Urinary-excretion of calcium and magnesium in children. *Archiv Dis Child.* 1974;49(2):97-101.
298. Bianchetti MG, Edefonti A, Bettinelli A. The biochemical diagnosis of Gitelman disease and the definition of "hypocalciuria". *Pediatr Nephrol.* 2003;18(5):409-11.
299. Hayden CK, Santacruz FR, Amparo EG, Brouhard B, Swischuk LE, Ahrendt DK. Ultrasonographic evaluation of the renal parenchyma in infancy and childhood. *Radiol.* 1984;152(2):413-7.
300. Slovis TL, Bernstein J, Gruskin A. Hyperechoic kidneys in the newborn and young infant. *Pediatr Nephrol.* 1993;7(3):294-302.
301. Wrong O. Nephrocalcinosis. In: *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*, Davison AM, Cameron JS, Grünfeld J, et al (Eds), Oxford University Press, Oxford 2005; 1375.
302. Waldegger S, Jentsch TJ. From tonus to tonicity: Physiology of CLC chloride channels. *Journal of the Am Soc Nephrol.* 2000;11(7):1331-9.
303. Keck M, Andrini O, Lahuna O, Burgos J, Pablo Cid L, Sepulveda FV, et al. Novel CLCNKB Mutations Causing Bartter Syndrome Affect Channel Surface Expression. *Hum Mutat.* 2013;34(9):1269-78.
304. Yu Y, Xu C, Pan X, Ren H, Wang W, Meng X, et al. Identification and functional analysis of novel mutations of the CLCNKB gene in Chinese patients with classic Bartter syndrome. *Clin Genet.* 2010;77(2):155-62.
305. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. 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.* 2015;17(5):405-24.
306. Tavira B, Gomez J, Santos F, Gil H, Alvarez V, Coto E. A labor- and cost-effective non-optical semiconductor (Ion Torrent) next-generation sequencing of the SLC12A3 and CLCNKA/B genes in Gitelman's syndrome patients. *J Hum Genet.* 2014;59(7):376-80.
307. Enriquez R, Adam V, Sirvent AE, Garcia-Garcia AB, Millan I, Amoros F. Gitelman syndrome due to p.A204T mutation in CLCNKB gene. *Int Urol Nephrol.* 2010;42(4):1099-102.
308. Gorgojo JJ, Donnay S, Jeck N, Konrad M. A Spanish founder mutation in the chloride channel gene, CLCNKB, as a cause of atypical Bartter syndrome in adult age. *Horm Res.* 2006;65(2):62-8.
309. Vargas-Poussou R, Dahan K, Kahila D, Venisse A, Riveira-Munoz E, Debaix H, et al. Spectrum of Mutations in Gitelman Syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22(4):693-703.

310. Cha EJ, Hwang WM, Yun SR, Park MH. An Adult Case of Bartter Syndrome Type III Presenting with Proteinuria. *J Pathol Transl Med.* 2016;50(2):160-4.
311. Zelikovic I, Szargel R, Hawash A, Labay V, Hatib I, Cohen N, et al. A novel mutation in the chloride channel gene, *CLCNKB*, as a cause of Gitelman and Bartter syndromes. *Kidney Int.* 2003;63(1):24-32.
312. Grill A, Schiessl IM, Gess B, Fremter K, Hammer A, Castrop H. Salt-losing nephropathy in mice with a null mutation of the *Clcnk2* gene. *Acta Physiol.* 2016;218(3):198-211.
313. Teulon J, Lourdel S, Nissant A, Paulais M, Guinamard R, Marvao P, et al. Exploration of the basolateral chloride channels in the renal tubule using. *Nephron Physiol.* 2005;99(2):64-8.
314. Malafronte C, Borsa N, Tedeschi S, Syren ML, Stucchi S, Bianchetti M, et al. Cardiac arrhythmias due to severe hypokalemia in a patient with classic Bartter disease. *Pediatr Nephrol.* 2004;19(12):1413-5.
315. Scognamiglio R, Negut C, Calo LA. Aborted sudden cardiac death in two patients with Bartter's/Gitelman's syndromes. *Clin Nephrol.* 2007;67(3):193-7.
316. Halperin M, Kamel KS. Potassium. *Lancet* 1998;352:135-40.
317. Finsterer J, Stoellberger C. Recurrent aborted sudden cardiac death with seizures and rhabdomyolysis due to bulimia-induced hypokalemia. Report of one case. *Rev Med Chil.* 2014;142(6):799-802.
318. Scognamiglio R, Calo LA, Negut C, Coccato M, Mormino P, Pessina AC. Myocardial perfusion defects in Bartter and Gitelman syndromes. *Eur J Clin Invest.* 2008;38(12):888-95.
319. Gallagher H, Soar J, Tomson C. New guideline for perioperative management of people with inherited salt-wasting alkaloses. *Br J Anaesth.* 2016;116(6):746-9.
320. Wesdorp I, Bosman D, de Graaff A, Aronson D, van der Blij F, Taminiou J. Clinical presentations and predisposing factors of cholelithiasis and sludge in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000;31(4):411-7.
321. Butt Z, Hyder Q. Cholelithiasis in hepatic cirrhosis: Evaluating the role of risk factors. *J Pak Med Assoc.* 2010;60(8):641-4.
322. Friesen CA, Roberts CC. Cholelithiasis - clinical characteristics in children - case analysis and literature-review. *Clin Pediatr.* 1989;28(7):294-8.
323. Venkataraman PS, Han BK, Tsang RC, Daugherty CC. Secondary hyperparathyroidism and bone-disease in infants receiving long-term furosemide therapy. *Am J Dis Chil.* 1983;137(12):1157-61.
324. Hillman DA, Neyzi O, Porter P, Cushman A, Talbot NB. Renal (vasopressin-resistant) diabetes insipidus - definition of the effects of a homeostatic limitation in capacity to conserve water on the physical, intellectual and emotional development of a child. *Pediatrics.* 1958;21(3):430-5.
325. Lopez-Garcia SC, Downie ML, Kim JS, Boyer O, Walsh SB, Nijenhuis T, et al. Treatment and long-term outcome in primary nephrogenic diabetes insipidus. *Nephrology, dialysis, transplantation. Nephrol Dial Transplant.* 2020. doi: 10.1093/ndt/gfaa243.
326. Alonso J RE, Barrio G, Prieto L, Rodríguez C, De la Fuente L. Valores poblacionales de referencia de la versión española del Cuestionario de Salud SF-36. *Med Clin.* 1998;111:410-6.
327. Hervas A, Zabaleta A, De Miguel G, Beldarrain O, Diez J. Health related quality of life in patients with diabetes mellitus type 2. *An Sist Sanit Navar.* 2007;30(1):45-52.
328. Theofilou P. Depression and anxiety in patients with chronic renal failure: the effect of sociodemographic characteristics. *Int J Nephrol.* 2011;2011. doi: 10.4061/2011/514070.
329. Vallet M, Picard N, Loffing-Cueni D, Fysekidis M, Bloch-Faure M, Deschenes G, et al. Pendrin regulation in mouse kidney primarily is chloride-dependent. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(8):2153-63.

330. Roden DM. Drug therapy: Drug-induced prolongation of the QT interval. *N Engl J Med.* 2004;350(10):1013-22.
331. Yang S-S, Lo Y-F, Wu C-C, Lin S-W, Yeh C-J, Chu P, et al. SPAK-Knockout Mice Manifest Gitelman Syndrome and Impaired Vasoconstriction. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(11):1868-77.
332. Rodan AR, Huang C-L. An Emerging Role for SPAK in NCC, NKCC, and Blood Pressure Regulation. *Jof Am Soc Nephrol.* 2010;21(11):1812-4.
333. Leonhardt A, Timmermanns G, Roth B, Seyberth HW. Calcium homeostasis and hypercalciuria in hyperprostaglandin-e syndrome. *J Pediatr.* 1992;120(4):546-54.
334. Sann L, David L, Bernheim J, Francois R. Hypophosphatemia and hyper-parathyroidism in a case of bartters-syndromE. *Helv Paediatr Acta.* 1978;33(3):299-310.
335. Deschenes G, Burguet A, Guyot C, Hubert P, Garabedian M, Dechaux M, et al. Antenatal form of Bartter Syndrome. *Ann Pediatr.* 1993;40(2):95-101.
336. Rodriguez-Soriano J, Vallo A, Aguirre M. Bone mineral density and bone turnover in patients with Bartter syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2005;20(8):1120-5.
337. Bettinelli A, Vigano C, Provero MC, Barretta F, Albisetti A, Tedeschi S, et al. Phosphate homeostasis in Bartter syndrome: a case-control study. *Pediatr Nephrol.* 2014;29(11):2133-8.
338. Lang F, Greger R, Knox FG, Oberleithner H. Factors modulating the renal handling of phosphate. *Renal Physiol Biochem.* 1981;4(1):1-16.
339. Friedlander G. Regulation of renal phosphate handling: recent findings. *Curr Opin Nephrology hypertens.* 1996;5(4):316-20.
340. Hu MC, Shiizaki K, Kuro-o M, Moe OW. Fibroblast Growth Factor 23 and Klotho: Physiology and Pathophysiology of an Endocrine Network of Mineral Metabolism. *Annu Rev Physiol.* 2013;75:503-33.
341. Gardner DG, Brown EM, Windeck R, Aurbach GD. Prostaglandin-E2 Stimulation of adenosine-3',5'-monophosphate accumulation and parathyroid-hormone release in dispersed bovine parathyroid cells. *Endocrinol.* 1978;103(2):577-82.
342. Goma AA, Hassan HA, Ghaneimah SA. Effect of aspirin and indomethacin on the serum and urinary calcium, magnesium and phosphate. *Pharmacol Res* 1990;22(1):59-70.
343. Bijlsma JWJ, Rabelink AJ. Influence of indomethacin on extracellular calcium homeostasis. *Ann Rheum Dis.* 1990;49(2):125-7.
344. Shoemaker L, Welch TR, Bergstrom W, Abrams SA, Yergey AL, Vieira N. Calcium kinetics in the hyperprostaglandin-e syndrome. *Pediatr Res.* 1993;33(1):92-6.
345. Proesmans W. Bartter syndrome and its neonatal variant. *Eur J Pediatr.* 1997;156(9):669-79.
346. Lietman SA, Germain-Lee EL, Levine MA. Hypercalcemia in children and adolescents. *Curr Opin Pediatr.* 2010;22(4):508-15.
347. Wagner CA, Loffing-Cueni D, Yan Q, Schulz N, Fakitsas P, Carrel M, et al. Mouse model of type II Bartter's syndrome. II. Altered expression of renal sodium- and water-transporting proteins. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2008;294(6):F1373-F80.
348. Jeck N, Konrad M, Hess M, Seyberth HW. The diuretic- and Bartter-like salt-losing tubulopathies. *Nephrol Dial Transplant.* 2000;15:19-20.
349. Hoppe B. Urolithiasis and Nephrocalcinosis. *Pediatric Urogenital Radiology, 3rd Edition.* 2018:269-82.

350. Sorokin I, Mamoulakis C, Miyazawa K, Rodgers A, Talati J, Lotan Y. Epidemiology of stone disease across the world. *World J Urol.* 2017;35(9):1301-20.
351. Lopez M, Hoppe B. History, epidemiology and regional diversities of urolithiasis. *Pediatr Nephrol.* 2010;25(1):49-59.
352. Velasquez-Forero F, Esparza M, Salas A, Medeiros M, Toussaint G, Llach F. Risk factors evaluation for urolithiasis among children. *Boletin Medico Del Hospital Infantil De Mexico.* 2016;73(4):228-36.
353. Sternberg K, Greenfield SP, Williot P, Wan J. Pediatric stone disease: An evolving experience. *J Urol.* 2005;174(4):1711-4.
354. Rous SN, Turner WR. Retrospective study of 95 patients with staghorn calculus disease. *J Urol.* 1977;118(6):902-4.
355. Daneman A, Navarro OM, Somers GR, Mohanta A, Jarrin JR, Traubici J. Renal Pyramids: Focused Sonography of Normal and Pathologic Processes. *Radiographics.* 2010;30(5):1287-307.
356. Epstein M. Aldosterone as a mediator of progressive renal dysfunction: Evolving perspectives. *Intern Med.* 2001;40(7):573-83.
357. Torres VE, Young WF, Offord KP, Hattery RR. Association of hypokalemia, aldosteronism, and renal cysts. *N Engl J Med.* 1990;322(6):345-51.
358. Igarashi T, Shibuya K, Kamoshita S, Higashihara E, Kawato H, Hagishima K, et al. Renal cyst formation as a complication of primary distal renal tubular-acidosis. *Nephron.* 1991;59(1):75-9.
359. Igarashi T, Kosugi T. The Incidence of renal cyst formation in patients with primary distal renal tubular-acidosis. *Nephron.* 1994;66(4):474.
360. Alpern RJ, Toto RD. Hypokalemic nephropathy - a clue to cystogenesis. *N Engl J Med.* 1990;322(6):398-9.
361. Torres VE, Mujwid DK, Wilson DM, Holley KH. Renal cystic-disease and ammoniogenesis in han-sprcd rats. *J Am Soc Nephrol.* 1994;5(5):1193-200.
362. Watanabe T, Tajima T. Renal cysts and nephrocalcinosis in a patient with Bartter syndrome type III. *Pediatr Nephrol.* 2005;20(5):676-8.
363. Ravine D, Gibson RN, Donlan J, Sheffield LJ. An ultrasound renal cyst prevalence survey - specificity data for inherited renal cystic diseases. *Ame J Kidney Dis.* 1993;22(6):803-7.
364. Flyvbjerg A, Dorup I, Everts ME, Orskov H. Evidence that potassium-deficiency induces growth-retardation through reduced circulating levels of growth-hormone and insulin-like growth factor-I. *Metabolism.* 1991;40(8):769-75.
365. Gil-Pena H, Garcia-Lopez E, Alvarez-Garcia O, Loredó V, Carbajo-Perez E. Growth hormone (GH) treatment increases body weight of potassium depleted young rats but does not modify renal enlargement. *Pediatr Nephrol.* 2011;26(8):1356-7.
366. Buyukcelik M, Keskin M, Kilic BD, Kor Y, Balat A. Bartter syndrome and growth hormone deficiency: three cases. *Pediatr Nephrol.* 2012;27(11):2145-8.
367. Instituto Nacional de Estadística [Internet]. Madrid: -; 2017.[citado 2 de marzo 2021]. Recuperado a partir de: <http://www.ine.es>
368. Bockenhauer D, Bichet DG. Pathophysiology, diagnosis and management of nephrogenic diabetes insipidus. *Nat Rev Nephrol.* 2015;11(10):576-88.

369. Bockenhauer D, van't Hoff W, Dattani M, Lehnhardt A, Subtirelu M, Hildebrandt F, et al. Secondary Nephrogenic Diabetes Insipidus as a Complication of Inherited Renal Diseases. *Nephron Physiol.* 2010;116(4):P23-P9.
370. Wong W, Hulton SA, Taylor CM, Raafat F, Lote CJ, Lindop G. A case of neonatal Bartter's syndrome. *Pediatr Nephrol.* 1996;10(4):414-8.
371. Bockenhauer D, Bichet DG. Inherited secondary nephrogenic diabetes insipidus: concentrating on humans. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2013;304(8):F1037-F42.
372. Lefebvre J, Racadot A, Dequiedt P, Linquette M. Exchangeable electrolytes, glycoregulation and growth-hormone in one case of bartters-syndrome. *Anna Endocrinol.* 1977;38(6):385-6.
373. Ruvalcaba RHA. Familial growth-hormone deficiency associated with bartters-syndrome. *Clin Res.* 1991;39(1):132.
374. Akil I, Ozen S, Kandiloglu AR, Ersoy B. A patient with Bartter syndrome accompanying severe growth hormone deficiency and focal segmental glomerulosclerosis. *Clin Exp Nephrol.* 2010;14(3):278-82.
375. Adachi M, Tajima T, Muroya K, Asakura Y. Classic Bartter syndrome complicated with profound growth hormone deficiency: a case report. *J Med Case Rep.* 2013;7:283.
376. Brambilla I, Poddighe D, Mantelli SS, Guarracino C, Marseglia GL. Bartter syndrome and growth hormone deficiency: Three siblings with a novel CLCNKB mutation. *Pediatr Int.* 2019;61(2):193-7.
377. Liu J, Shen Q, Li G, Zhai Y, Fang X, Xu H. Clinical and genetic analysis of distal renal tubular acidosis in three Chinese children. *Ren Fail.* 2018;40(1):520-6.
378. Gil-Pena H, Mejia N, Alvarez-Garcia O, Loredó V, Santos F. Longitudinal growth in chronic hypokalemic disorders. *Pediatr Nephrol.* 2010;25(4):733-7.
379. Carbajo E, Lopez JM, Santos F, Ordonez FA, Nino P, Rodriguez J. Histologic and dynamic changes induced by chronic metabolic acidosis in the rat growth plate. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12(6):1228-34.
380. Challa A, Krieg RJ, Thabet MA, Veldhuis JD, Chan JCM. Metabolic-acidosis inhibits growth-hormone secretion in rats - mechanism of growth-retardation. *Am J Physiol.* 1993;265(4):547-53.
381. Ordonez FA, Santos F, Martinez V, Garcia E, Fernandez P, Rodriguez J, et al. Resistance to growth hormone and insulin-like growth factor-I in acidotic rats. *Pediatr Nephrol.* 2000;14(8-9):720-5.
382. Hochberg Z, Amit T, Flyvbjerg A, Dorup I. Growth-hormone (GH) Receptor and gh-binding protein-deficiency in the growth failure of potassium-depleted rats. *Jo Endocrinol.* 1995;147(2):253-8.
383. 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(1):1-9.
384. Shalev H, Ohali M, Kachko L, Landau D. The neonatal variant of Bartter syndrome and deafness: Preservation of renal function. *Pediatrics.* 2003;112(3):628-33.
385. Lopez-Garcia SC, Emma F, Walsh SB, Fila M, Hooman N, Zaniew M, et al. Treatment and long-term outcome in primary distal renal tubular acidosis. *Nephrol Dial Transplant.* 2019;34(6):981-91.
386. Bhardwaj S, Thergaonkar R, Sinha A, Hari P, Cheong HI, Bagga A. Phenotype of Dent Disease in a Cohort of Indian Children. *Indian Pediatr.* 2016;53(11):977-82.
387. Perkins JG, Petersen AB, Riley JA. Renal and cardiac lesions in potassium deficiency due to chronic diarrhea. *Am J Med.* 1950;8(1):115-23.
388. Bock KD, Cremer W, Werner U. Chronic hypokalemic nephropathy - clinical-study. *Klin Wochenschr.* 1978;56:91-6.

389. Cummings JH. Laxative abuse. *Gut*. 1974;15(9):758-66.
390. Holmberg C. Congenital chloride diarrhea. *Clin Gastroenterol*. 1986;15(3):583-602.
391. Emery C, Young RM, Morgan DB, Hay AWM, Tettedonker D, Rubython J. Tubular damage in patients with hypokalemia. *Clinica Chimica Acta*. 1984;140(3):231-8.
392. Riemenschneider T, Bohle A. Morphologic aspects of low-potassium and low-sodium nephropathy. *Clin Nephrol*. 1983;19(6):271-9.
393. Cremer W, Bock KD. Symptoms and course of chronic hypokalemic nephropathy in man. *Clin Nephrol*. 1977;7(3):111-9.
394. Elitok S, Bieringer M, Schneider W, Luft FC. Kaliopenic nephropathy revisited. *Clin Kidney J*. 2016;9(4):543-6.
395. Suga SI, Yasui N, Yoshihara F, Horio T, Kawano Y, Kangawa K, et al. Endothelin A receptor blockade and endothelin B receptor blockade improve hypokalemic nephropathy by different mechanisms. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14(2):397-406.
396. Conn JW, Johnson RD. Kaliopenic nephropathy. *Am J Clin Nutr*. 1956;4(5):523-8.
397. Menahem SA, Perry GJ, Dowling J, Thomson NM. Hypokalaemia-induced acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. 1999;14(9):2216-8.
398. Relman AS, Schwartz WB. Kidney in potassium depletion. *Am J Med*. 1958;24(5):764-73.
399. Spivacow FR, del Valle EE, Boailchuk JA, Sandoval Diaz G, Rodriguez Ugarte V, Arreaga Alvarez Z. Metabolic risk factors in children with kidney stone disease: an update. *Pediatr Nephrol*. 2020;35(11):2107-12.
400. Bouchireb K, Boyer O, Mansour-Hendili L, Garnier A, Heidet L, Niaudet P, et al. Fanconi syndrome and severe polyuria: an uncommon clinicobiological presentation of a Gitelman syndrome. *BMC Pediatrics*. 2014;14:201-204.
401. Watanabe T. Renal Fanconi syndrome in distal renal tubular acidosis. *Pediatr Nephrol*. 2017;32(6):1093.
402. Tasic V, Korneti P, Gucev Z, Hoppe B, Blau N, Cheong HI. Atypical presentation of distal renal tubular acidosis in two siblings. *Pediatr Nephrol*. 2008;23(7):1177-81.
403. Fricker H, Frey K, Vallotton MB, Gugler E. Bartters-syndrome and renal tubular defects. *Helv Paediatr Acta*. 1975;30(1):61-77.
404. Su IH, Frank R, Gauthier BG, Valderrama E, Simon DB, Lifton RP, et al. Bartter syndrome and focal segmental glomerulosclerosis: a possible link between two diseases. *Pediatr Nephrol*. 2000;14(10-11):970-2.
405. Hanevold C, Mian A, Dalton R. C1q nephropathy in association with Gitelman syndrome: a case report. *Pediatr Nephrol*. 2006;21(12):1904-8.
406. Siragy HM, Carey RM. Role of the Intrarenal Renin-Angiotensin-Aldosterone System in Chronic Kidney Disease. *Am J Nephrol*. 2010;31(6):541-50.
407. Lu Y, Ku E, Campese VM. Aldosterone in the Pathogenesis of Chronic Kidney Disease and Proteinuria. *Current Hypertension Reports*. 2010;12(4):303-6.
408. Gansevoort RT, Sluiter WJ, Hemmelder MH, Dezeuw D, Dejong PE. Antiproteinuric effect of blood-pressure-lowering agents - a metaanalysis of comparative trials. *Nephrol Dial Transplant*. 1995;10(11):1963-74.
409. Schaller S, Kaplan BS. Acute nonoliguric renal failure in children associated with nonsteroidal antiinflammatory agents. *Pediatric Emergency Care*. 1998;14(6):416-8.

410. Haas M, Spargo BH, Wit EJC, Meehan SM. Etiologies and outcome of acute renal insufficiency in older adults: A renal biopsy study of 259 cases. *Am J Kidney Dis.* 2000;35(3):433-47.
411. Perazella MA. Drug-induced renal failure: Update on new medications and unique mechanisms of nephrotoxicity. *Am J Med Sci.* 2003;325(6):349-62.
412. Taber SS, Mueller BA. Drug-associated renal dysfunction. *Crit Care Clin.* 2006;22(2):357-374.
413. Bailey D, Phan V, Litalien C, Ducruet T, Merouani A, Lacroix J, et al. Risk factors of acute renal failure in critically ill children: A prospective descriptive epidemiological study. *Pediatr Crit Care Med.* 2007;8(1):29-35.
414. Pommer W, Molzahn M. Analgesic nephropathy. *Internist.* 1996;37(11):1129-36.
415. Arant BS, Brackett NC, Young RB, Still WJS. Case studies of siblings with juxtaglomerular hyperplasia and secondary aldosteronism associated with severe azotemia and renal rickets - bartters syndrome or disease. *Pediatrics.* 1970;46(3):344-&.
416. Zaniew M, Bokenkamp A, Kolbus M, La Scola C, Baronio F, Niemirska A, et al. Long-term renal outcome in children with OCRL mutations: retrospective analysis of a large international cohort. *Nephrol Dial Transplant.* 2018;33(1):85-94.
417. Claverie-Martin F. Familial hypomagnesaemia with hypercalciuria and nephrocalcinosis: clinical and molecular characteristics. *Clin Kidney J.* 2015;8(6):656-64.
418. Palazzo V, Provenzano A, Becherucci F, Sansavini G, Mazzinghi B, Orlandini V, et al. The genetic and clinical spectrum of a large cohort of patients with distal renal tubular acidosis. *Kidney Int.* 2017;91(5):1243-55.
419. Chaabouni MN, Kessentini K, Letaief Y, Mhiri MN. Staghorn calculi in children - a series of 32 cases. *Ann Urol.* 1992;26(5):319-23.
420. Frick J, Sarica K, Kohle R, Kunit G. Long-term follow-up after extracorporeal shock-wave lithotripsy in children. *Euro Urol.* 1991;19(3):225-9.
421. Brinkmann OA, Griehl A, Kuwertz-Broking E, Bulla M, Hertle L. Extracorporeal shock wave lithotripsy in children - Efficacy, complications and long-term follow-up. *Euro Urol.* 2001;39(5):591-7.
422. Carmody JB, Charlton JR. Short-Term Gestation, Long-Term Risk: Prematurity and Chronic Kidney Disease. *Pediatrics.* 2013;131(6):1168-79.
423. Starr MC, Hingorani SR. Prematurity and future kidney health: the growing risk of chronic kidney disease. *Current Opinion in Pediatrics.* 2018;30(2):228-35.
424. Crump C, Sundquist J, Winkleby MA, Sundquist K. Preterm birth and risk of chronic kidney disease from childhood into mid-adulthood: national cohort study. *BMJ.* 2019;365:1346.
425. Brenner BM, Chertow GM. Congenital oligonephropathy: an inborn cause of adult hypertension and progressive renal injury? *Cur opin nephrol hypertens.* 1993;2(5):691-5.
426. Blanchard A, Vargas-Poussou R, Vallet M, Caumont-Prim A, Allard J, Desport E, et al. Indomethacin, Amiloride, or Eplerenone for Treating Hypokalemia in Gitelman Syndrome. *Journal of the Am Soc of Nephrol.* 2015;26(2):468-75.
427. Libber S, Harrison H, Spector D. Treatment of nephrogenic diabetes-insipidus with prostaglandin synthesis inhibitors. *J Pediatr.* 1986;108(2):305-11.
428. Vane JR, Botting RM. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Med.* 1998;104(3):2-8.
429. Koemhoff M, Klaus G, Nazarowa S, Reinalter SC, Seyberth HW. Increased systolic blood pressure with rofecoxib in congenital furosemide-like salt loss. *Nephrol Dial Transplant.* 2006;21(7):1833-7.

430. Henry Krum, Tai-Juan Aw, Danny Liew, Steven Haas. Blood pressure effects of COX-2 inhibitors. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2006; 47 (suppl 1): 43-48.
431. Stölting G, Bungert-Pluemke S, Franzen A, Fahlke C. Carboxyl-terminal Truncations of CIC-Kb Abolish Channel Activation by Barttin Via Modified Common Gating and Trafficking. *J Biol Chem.* 2015;290(51):30406-16.
432. Bettinelli A, Borsa N, Syren ML, Mattiello C, Coviello D, Edefonti A, et al. Simultaneous mutations in the CLCNKB and SLC12A3 genes in two siblings with phenotypic heterogeneity in classic Bartter syndrome. *Pediatric Research.* 2005;58(6):1269-73.
433. Luqman A, Kazmi A, Wall BM. Bartter's Syndrome in Pregnancy: Review of Potassium Homeostasis in Gestation. *Am J Med Sci.* 2009;338(6):500-4.
434. Osullivan E, Monga M, Graves W. Bartter's syndrome in pregnancy: A case report and review. *Am J Perinatol.* 1997;14(1):55-7.
435. Li IC, To WW. Bartter's syndrome in pregnancy: a case report and review. *J Obstet Gynaecol Res.* 2000;26(2):77-9.
436. Nohira T, Nakada T, Akutagawa O, Fujito A, Okabe K, Ioya N, et al. Pregnancy complicated with Bartter's syndrome: A case report. *J Obstet Gynaecol Res.* 2001;27(5):267-74.
437. Deruelle P, Dufour P, Magnenant E, Courouble N, Puech F. Maternal Bartter's syndrome in pregnancy treated by amiloride. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004;115(1):106-7.
438. Peregrin-Alvarez I, Rodriguez-Casares J, Lucena-Herrera C, Arribas F, Castro D. Bartter's syndrome and pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005;121(1):118-9.
439. Basu A, Dillon RDS, Taylor R, Davison JM, Marshall SM. Is normalisation of serum potassium and magnesium always necessary in Gitelman Syndrome for a successful obstetric outcome? *Bjog-an International J Obstet Gynaecol.* 2004;111(6):630-4.
440. Calo LA, Caielli P. Gitelman's syndrome and pregnancy: new potential pathophysiological influencing factors, therapeutic approach and materno-fetal outcome. *J Mater Fetal Neonatal Med.* 2012;25(8):1511-3.
441. Carr BR, Gant NF. The endocrinology of pregnancy-induced hypertension. *Clin Perinatol.* 1983;10(3):737-61.
442. Ehrlich EN, Nolten WE, Oparil S, Lindheimer MD. Mineralocorticoids in normal pregnancy. Perspectives in nephrology and hypertension. 1976;5:189-201.
443. Cunningham DS, Brodnik RM, Rayl DL, Brown AW, Hansen KA. Suboptimal progesterone production in pathological pregnancies. *J Reprod Med.* 1993;38(4):301-5.
444. Stein JH. The pathogenetic spectrum of bartters-syndrome. *Kidney Int.* 1985;28(1):85-93.
445. Everett C. Incidence and outcome of bleeding before the 20th week of pregnancy: Prospective study from general practice. *BMJ.* 1997;315(7099):32-4.
446. Wilcox AJ, Weinberg CR, Oconnor JF, Baird DD, Schlatterer JP, Canfield RE, et al. Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med.* 1988;319(4):189-94.
447. Bukowski R, Hansen NI, Pinar H, Willinger M, Reddy UM, Parker CB, et al. Altered fetal growth, placental abnormalities, and stillbirth. *Plos One.* 2017;12(8). doi: 10.1371/journal.pone.0182874.
448. Bloor M, Paech M. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs During Pregnancy and the Initiation of Lactation. *Anesth Anal.* 2013;116(5):1063-75.

449. Bermas BL. Non-steroidal anti inflammatory drugs, glucocorticoids and disease modifying anti-rheumatic drugs for the management of rheumatoid arthritis before and during pregnancy. *Curr Opin Rheumatol.* 2014;26(3):334-40.
450. ACOG Practice Bulletin No. 203: Chronic Hypertension in Pregnancy. *Obstet gynecol.* 2019;133(1):26-50.
451. Pucci M, Sarween N, Knox E, Lipkin G, Martin U. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers in women of childbearing age: risks versus benefits. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2015;8(2):221-31.
452. Oppermann M, Padberg S, Kayser A, Weber-Schoendorfer C, Schaefer C. Angiotensin-II receptor 1 antagonist fetopathy risk assessment, critical time period and vena cava thrombosis as a possible new feature. *Br J Clin Pharmacol.* 2013;75(3):822-30.
453. Le Guern H, Collet, H., Jehannin, B. & Boog, G. The fetal kidney, pathology, ultrasound, semiology and pre-and postnatal correlations. *JEMU.* 1983;4:65-71.
454. Dinkel E, Ertel M, Dittrich M, Peters H, Berres M, Schultewissermann H. Kidney size in childhood sonographical growth charts for kidney length and volume. *Pediatr Radiol.* 1985;15(1):38-43.

X. ANEXOS

Anexo 1. Secuencia del promotor y del exón 1-20 del gen *CLCNKB* (transcripto ENST00000375679.9). Las distintas regiones en el gen se distinguen por el color de las bases de los nucleótidos adenina (a), guanina (g), citosina (c) y timina (t): en color verde las secuencias flanqueadas, en naranja las regiones no traducidas, en negro las regiones intrónicas y en azul secuencia traducida. Cada cuadrado de color encima de las bases representan los distintos tipos de variantes halladas en el gen hasta la actualidad.

```

.....ggacattctaagtgttcgccataaacctgggccaggcgggaaagggg
GAGGA TG TTGATTGTTGGAACACACACCTGTCCAGGT CAGG GAGCTGGAG GCTCTGTG
ACAGGAGGGCCAGCTCAGCCA CAGCAGGAGGACTGACAG
gtgagggctcgtcaagatgctgg.....tcctcctctatccgcttccag
GGGCTGATGGA GGAGTTGTGGCTGCGTGAAGGCTCCTCAGGGAACCCTGTGACTCT
G CAGGA GCTGTGGGGCCCTGTCCCAGCATCCGCGAGGCATCCGAG
gtgagagccaggtcctctccctc.....gccgtgaccccatgccctgccccag
GTGGCCTGGAGTGGCTGAAGCAGAAGCTCTTCCGCTGGGCGAGGACTGTGTACTTCCTGA
TGACCCCTCGGGTGCATGACCCTGGTCAGCTGTGCCATGGACTTGGCTGTTGAGAGTG
TGGTCCGAG
gtaaccctccatggcaggtgctgc.....ctcctgataccggctgccccag
CGCA CCAAGTGGCTGTACAGGGA GATTGGGGA CAGCCA CTGCTCGGTATCTCTCTGGA
CTGTGTACCCCTGTGGCCCTCGTCTCTTCTCTTCAAGGCTTCTCTCAGAGCATCCACCCCT
CCTCTGGAG
gtgagtcacagtcgctacgccagt.....cctggcctgcccaccccgccaaag
GTTC TGGAATCCCGGAGGTGAAGACCATGTTGGCGGTGTGGTCTTGGAGGACTACCTGG
ATATCAAGAACTTTGGGCCAAAGTGGTGGCCCTCTCTGCAACCTGGCCGTGGCAGCA
CCCTCTTCTCGGGAAGTG
gtatgggcaggggtgagggcatccc.....cctggcccaccctctctctgag
GGCCCTTTCTGTGACCTGTCTGTGATGATGGCTG CCTACCTGGCCG TGTGCGCACCCAG
ACCATCGGGGAGCCTGAG
gttagggactcggggcttctgg.....tgagccctggactggatccccag
AACAAAGAGCAAGCAAACAGAAATGCTGGTGGCAGCGCGGCCAGTGGGCGTGGCCACGTC
TTTGCAGCTCCCTCAGCG
gtgagacccttcatgcccccccc.....cacctgagatcaggtgccccag
GCTCCTGTT CAGCATCGAGGTTCATGTC TCCCACTTCTCTGTCTGGGATTACTGGAGGG
GTTCTTTGCGGCACCTGCGGGGCCTTCATGTTCCGGCTCTGCGGTCTTCAACAGCG
AGCAGG
gtgagccccctgggctgctgacc.....gtccccactgcctcctccccag
AGACCATCACCTCCTCTAACAGACCAAGTTCCGGGTGGACGTTCCCTTCGACCTGCTTG
AGATCTTCTTTTTGTGGCGTGGG
gtgagtggtgcttggccccctga.....gggctcatgtctccatgctccccag

```

G G G T C T C T G T G G C A T C C T G G C A G C G C T T A C C T C T T C T G T C A G C G A A T T T C T T T G G C T T
C A T C A G G A A C A A T A G G T T C A G C T C C A A A C T G C T G G C C A C C A G

gtaggctccgggctaagggtggg.....cctagagccccacatccccacag

C A A G C C T G T G T A C T C C G C T C T G G C C A C C T T G G T T C C G C C T C A T C A C C T A C C C A C C C A G
C G C C G G C C G C T T C T A G C T T C T C G G

gtaagggcctgagtgggtggca.....ccagttcccactgccccgccacag

C T G T C C A T G A A G C A G C A T C T G G A C T C G C T G T T C G A C A A C C A C T C C T G G G C C T G A T G A C C
C A G A A C T C C A G C C C A C C C T G G C C G A G G A G C T C G A C C C C A G C A C C T G T G G T G G G A A T G
T A C C A C C C G C G T T C A C C A T C T T T G C G A C C C T T G C C T T C T C T C T G G T T A T G A A G

gtggccccctggtccccaggtgtg.....tgcctgggtcctcccactccccacag

T T C T G G A T C T G A T T C T G G C C A C C A T C C C A T G C C T G C C G G T A C T T C A T G C C A T C
T T T G T C T A T G

gtgagtctgggtcctgaggttctg.....cccctaccctaagtctgtggccag

G A G C T G C T A T C G G C G C C T C T T G G G G A G A C T C T C T T T T A T C T T C C C T G A G G G C A T C G
T G G C T G G A G G A T C A C C A A T C C C A T C A T G C C A G G C G G G T A T G C T C T G G C A G

gtgagtgggtcagggcctgctgcg.....gcctgcctgactctgcccttcag

G G G C T G C A G C C T T C T C A G G G G C T G T G A C C C A C A C C A T C T C C A C G G C G C T G C T G G C C T T C G
A G G T G A C C G G C C A G A T A G T G C A T G C A C T G C C C G T G C T G A T G G C G G T G C T G G C A G C C A A C G
C C A T T G C A T A G A G C T G C C A G C C C T C C T T C T A T G A T G G C A C C G T C A T T G T C A A G A A G C T G C
C A T A C C T G C C A C G G A T T C T G G G C C G C A A C A T C G G

gtgagtgtgccacctcaggctga.....ctgatggagcccctctgcctgcag

T T C C C A C C G C G T G A G G G T G G A G C A C T T C A T G A A C C A C A G C A T C A C C A C A C T G G C C A A G G A
C A T G C C A C T G G A G G A G G T G T C A A G G T T G T G A C C T C A C A G A C G T G G C C A A G T A T C C C C T
G G T G G A G A G C A C A G

gtgccagccggaaggaggaggaa.....ctctgctgtctcctacttgccag

A G T C C C A G A T C C T G G T G G C A T A G T C C G A A G G C C C A G C T G T G C A G G C C T G A A G G C T G
A G C C T C C T T C C T G G C T C T G G A C A C C A G

gtgggtactcctgagggcatggg.....acctgtaaccctccccacccccag

C A G T G T C T C A G G A C A T C T T G G C T G C A G G C T G C C C C A C A G A A C G T G A C C C T G A A G C T G
T C C C A G A G A C T T C C C T G C A T G A G

gtaacggggagaactgggaggtgtg.....gtgttctaacatccccatccag

G C A C A C A A C T C T T T G A G C T G T G A A C C T T C A T T C C C T C T T T G T G A C G T C G C G G G C A G A
G C T G T G G C T G C G T G T C T G G T G G A G

gtaccaggtcccggggcagagca.....cctcacccttctctgttttag

A T G A A G A A A G C A A T T T C C A A C C T G A C A A A T C C G C C A G C C C C A A A G T G A G C C G G C C C A G C A
A G A T G A A A C A G G G C A C C C C A G C T G A C C T G G T A C T G A G G T T G G G C T G A G A C C C T G C T T C T C
T T C C C C A T C A C C A C C T G C C C T C C C T C C A G C C A G C T C C A T T C T T T G G C A T A A C A G C A
A C T T T A A C C T A G C C C A G A A G A G G A T G G C T C A T C C T G G G T G G A C C A T G G C T C C T G C C T T G
A A A G A C A A A A T C C C A C C T T G G G C A G A G C T G A G T G T G A G A A T G G A A A A C C A G T A T C T G
C C A G T T G C T C A G T G A C T G C C A T C A C A T T A A T G A A T G A T G A G A T T G G A G T A C A C T G T C A C
C A A C G G C A G G C A C A G A T G C C T T C T G G G G T T G T C T G T T C C A G T G A G A G G C T C C T G A G A A
A A A T A A A G C T G G T T C C A G A

gctgtgtccatccctcatctcagctcaaggttctgtctgggactgg.....

Anexo 2. Médicos responsables que remitieron las muestras de sangre para el estudio molecular así como los datos clínicos de la evolución de nuestra cohorte. Entre paréntesis se menciona el hospital de procedencia y localización

1. Dra. Madariaga, Dra. Aguirre, Dra. Herrero, Dr. Arrieta, Dra. Bueno (Hospital Universitario Cruces, Barakaldo)
2. Dra. Ariceta, Dra. Chocrón (Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona)
3. Dr. Pintos Morell (Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona)
4. Dra. Catalá (Hospital General de Granollers, Granollers)
5. Dr. Quiroz (Hospital Residencia Sant Camil, Barcelona)
6. Dr. Len (Hospital Universitario Araba, Vitoria-Gasteiz)
7. Dra. Iceta (Hospital Virgen del Camino, Pamplona)
8. Dra. Espinosa, Dra. Navarro (Hospital Universitario La Paz, Madrid)
9. Dra. Espino (Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Alcorcón)
10. Dra. Fernández, Dr. García (Hospital Virgen de la Salud, Toledo)
11. Dra. Gil (Hospital Clínico Universitario Santiago de Compostela, Santiago de Compostela)
12. Dra. Lucas (Hospital Manises, Valencia)
13. Dra. Ferrando (Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia)
14. Dr. García Nieto, Dra. Llanes, Dr. Arango (Hospital Nuestra Señora de la Candelaria, Tenerife)
15. Dr. Barajas, Dra. Campos, Dra. Martínez (Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada)
16. Dr. Aljama (Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba)
17. Dr. Vela (Hospital de Poniente, Almería)
18. Dra. Fijo (Hospital Virgen del Rocío, Sevilla)
19. Dr. Sedeño (Hospital de Antequera, Málaga)
20. Dra. Loza (Hospital Nacional Cayetano Heredia, Lima, Perú)
21. Dra. Ponde (Hospital San Bartolomé, Lima, Perú)
22. Dra. Barilari (Hospital Municipal de San Justo, Buenos Aires, Argentina)
23. Dra. Kapoor (*Lok Nayak Jai Prakash Narayan Hospital, Delhi, India*)
24. Dra. Pintza (*Hippokratio General Hospital, Thessaloniki, Grecia*)
25. Dra. Espitaleta (Hospital Universitario San Ignacio, Bogotá, Colombia)
26. Dra. Do Carmo (Hospital Universitario de Brasilia, Brasil)

Anexo 3. Hoja de registro para la recogida de datos clínicos creada por el portal Renaltube para el estudio molecular del Síndrome de Bartter.

ID_paciente	
Iniciales paciente	
Sexo	
Fecha_nacimiento	
Etnia	
Consanguinidad	
Fecha_inclusión	
Tipo_Bartter	
Nefrocalcinosis_y_o_urolitiasis	
Insuficiencia_renal	
Talla_padre	
Talla_padre_ud	
Talla_madre	
Talla_madre_ud	
Otros	
Peso_al_nacer	
Peso_al_nacer_ud	
Longitud_al_nacer	
Longitud_al_nacer_ud	
Edad_gestacional	
Polihidramnios	
Otros_ant_per	
Fecha_de_diagnóstico	
Edad_al_diagnóstico	
Edad_al_diagnóstico_ud	
Edad_al_debut_clínico	
Edad_al_debut_clínico_ud	
Motivo_de_consulta	
Enfermedades_asociadas	
Peso_al_diagnóstico	
Peso_al_diagnóstico_ud	
Talla_al_diagnóstico	
Talla_al_diagnóstico_ud	
Presión arterial	
Edad_ósea	
Creatinina_sérica	
Creatinina_sérica_ud	
pH_venoso	
Bicarbonato_sérico	
Bicarbonato_sérico_ud	
Potasio_sérico	
Potasio_sérico_ud	
Sodio_sérico	
Sodio_sérico_ud	
Cloro_sérico	
Cloro_sérico_ud	
Calcio_sérico	

Calcio_sérico_ud	
Magnesio_sérico	
Magnesio_sérico_ud	
Renina_Actividad_renina_plasmática	
Renina_Actividad_renina_plasmática_ud	
Aldosterona_plasmática	
Aldosterona_plasmática_ud	
pH_urinario	
EF_Na	
EF_K	
EF_Cl	
GTTK_gradiente_transtubular_de_Potasio	
Cociente_urinario_calcio_creatinina	
Cociente_urinario_calcio_creatinina_ud	
Calciuria_24h	
Calciuria_24h_ud	
Cociente_urinario_magnesio_creatinina	
Cociente_urinario_magnesio_creatinina_ud	
Magnesiuria_24h	
Magnesiuria_24h_ud	
RX_abdomen_simple	
Ecografía_renal	
RX_huesos_largos	
Audiometría	
Gen	
Mutación	
Forma_de_presentación	

Anexo 4. Hoja de registro (en español e inglés) de datos clínicos para obtener información adicional del momento clínico y para obtener datos clínicos sobre la evolución a largo plazo (versión en español y en inglés).

SÍNDROME DE BARTTER (español)

1. Código del paciente (SOR)

2. Hospital y medico de referencia: e-mail: Telf:

3. Fecha de nacimiento:

4. Ecografías prenatales

- Tamaño renal: normal/anormal
- Líquido amniótico: normal/polihidramnios
- Otros hallazgos:

5. Fecha diagnóstico Síndrome de Bartter Tipo III:

6. Ecografía renal al diagnóstico:

- Tamaño renal: RD RI
- Ecogenicidad: normal/aumentada
- Desdiferenciación cortico-medular: si/no
- Nefrocalcinosis: si/no
- Litiasis: si/no
- Otros hallazgos (quistes/otras malformaciones....)

7. TA actual

8. Analítica sangre actual: Fecha

xPlasma

pH	Na ⁺ (mEq/l)	K ⁺ (mEq/l):	Cl ⁻ (mEq/l):	HCO ³⁻ (mEq/l)
Mg (mg/dl)				
Creatinina (mg/dl):		Urea (mg/dl)		
Renina (ng/ml):		(valores de referencia)		
Aldosterona (pg/ml):		(valores de referencia)		

X Orina:

Diuresis (poliuria si/no): ml/24 horas

EFNa%: EFK%: EFCI%:

Cr (mg/dl): Ca (mg/dl): Proteínas (mg/dl):

Microalbuminuria (mg/dl):

Hematuria:no/ macro/micro

9. ERC final si/no: Fecha inicio ERC:

10. Eco renal actual

- Tamaño renal: RD RI
- Ecogenicidad: normal/aumentada
- Desdiferenciación cortico-medular: si/no
- Nefrocalcinosis: si/no
- Litiasis: si/no
- Otros hallazgos (quistes/CAKUT....)

11. Crecimiento y desarrollo

Peso actual: kg

Talla actual: cm

Nutrición: precisó sonda nasogástrica o gastrostomía en algún momento si/no

Desarrollo neurológico: normal/anormal

12. Complicaciones durante la evolución:

Ingreso por hipopotasemia:

Ingreso por infecciones:

Litiasis que precisa litotricia extracorpórea/otra intervención quirúrgica por obstrucción:

Embarazos si/no (nº....) Abortos si/no (especificar trimestre y causa)

Complicaciones durante embarazo

13. TRATAMIENTO:**- Suplemento cloruro sódico** si/no

Al diagnóstico (mEq/día)

Actual (mEq/día)

- Aportes de potasio

Al diagnóstico (mEq o mg/día)

Actual (mEq/día o mg/día):

- Aportes Magnesio :

Al diagnóstico: si/no

Actual: si/no

- AINES si/no **Cual** (indometacina/ibuprofeno/otros):

Fecha de inicio:

Dosis al diagnóstico mg/día

Dosis actual mg/día

Complicaciones (efectos secundarios: úlceras...): si/no Especificar:

Suspensión fármaco si/no

- Protector gástrico:

Al diagnóstico si/no

Actual si/no

- Hormona de crecimiento a lo largo de la evolución si/no**- Espironolactona:**

Al diagnóstico si/no

Actual si /no

- Amiloride

Al diagnóstico si/no

Actual si /no

- Eplerrenona

Al diagnóstico si/no

Actual si /no

- IECA

Al diagnóstico si/no

Actual si /no

- Otros fármacos que haya recibido durante la evolución:**14. BIOPSIA RENAL.** Si/no Descripción:

BARTTER SYNDROME (inglés)**1. Patient's Code (SOR)****2. Hospital and doctor of reference:**

E-mail:

Telephone:

3. Date of birth:**4. Prenatal ultrasound**

- Kidney size: normal/abnormal
- Amniotic fluid: normal/polyhydramnios
- Other findings:

5. Date of diagnosis Bartter Syndrome Type III:**6. Renal ultrasound at diagnosis:**

- Renal size: Right Left
- Echogenicity: normal/increased
- Cortico-medullary dedifferentiation: yes/no
- Nephrocalcinosis yes/no
- Stones yes/no
- Other findings (cysts/CAKUT...)

7. Current blood pressure: mmHg**8. Current biochemical data:**

Date

X PlasmapH: Na⁺ (mEq/l): K⁺ (mEq/l): Cl⁻(mEq/l): HCO₃⁻(mEq/l):

Mg (mg/dl)

Creatinine (mg/dl): Urea (mg/dl)

Renin (ng/ml): (reference values)

Aldosterone (pg/ml): (reference values)

X Urine:

Diuresis (polyuria yes/no): ml/24 hours

EFNa%:

EFK%:

EFCL%:

Cr (mg/dl):

Ca (mg/dl):

Protein (mg/dl):

Microalbuminuria (mg/dl):

Hematuria: no/ macro/micro

9. Renal Chronic Failure current yes/no:**Renal Chronic Failure start date****10. Current renal Ultrasound**

- Kidney size: RD RI
- Echogenicity: normal/increased
- Cortical-medullary dedifferentiation: yes/no
- Nephrocalcinosis yes/no
- Stones yes/no
- Other findings (cysts/other anomalies...)

11. Growth and development

Current weight: kg

Current size: cm

Nutrition: nasogastric tube/gastrostomy at any time of the evolution yes/no

Neurological development: normal/abnormal

12. Complications during evolution:

- Admission for hypokalemia:

- Admission for infections:
- Stones requiring Lithotripsy/other surgical intervention due to obstruction:
- Pregnancies yes/no (n°....) Abortions yes/no (specify trimester and cause)
- Complications during pregnancy:

13. TREATMENT:

- **Supplementary sodium** yes/no
At diagnosis (mEq/day)
Current (mEq/day)
- **Supplementary potassium**
At diagnosis (mEq or mg/day)
Current (mEq/day or mg/day):
- **Supplementary Magnesium :**
To diagnosis: yes/no
Current: yes/no
- **NSAIDs** yes/no Which (indomethacin/ibuprofen/other):
Start date:
At diagnosis dose mg/day
Current dose mg/day
Complications (side effects: ulcers...): yes/no Specify
 Drug suspension yes/no

- **Gastric protector:**

- At diagnosis yes/no
- Current yes/no

- **Growth hormone** along evolution yes/no

- **Spirolactone:**

- To diagnosis yes/no
- Current yes / no

- **Amiloride**

- To diagnosis yes/no
- Current yes / no

- **Eplerrenone**

- To diagnosis yes/no
- Current yes / no

- **ACEi**

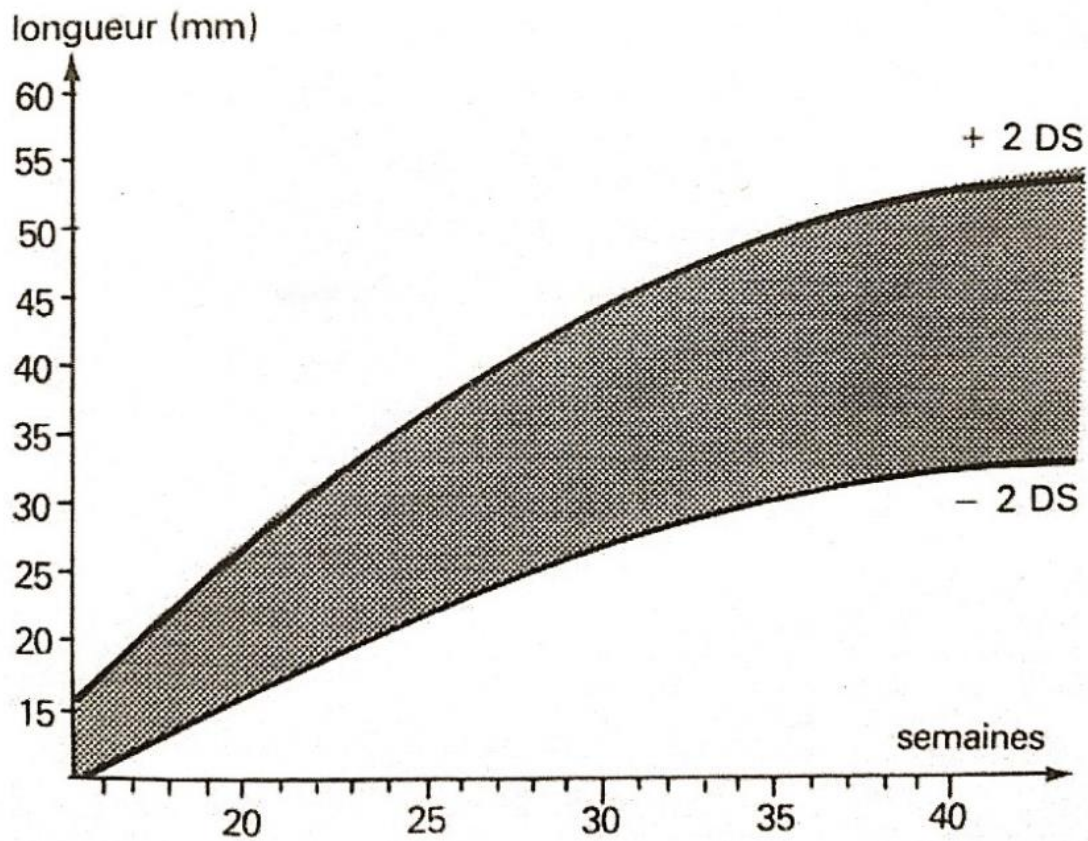
- To diagnosis yes/no
- Current yes / no

- **Other drugs** you may have received during your evolution:

14. RENAL BIOPSY. Yes/no **Description:**

Anexo 5. Tablas y gráficas de tamaño renal según la edad gestacional en los recién nacidos según Le Guern et al. (453) y en el resto de pacientes según Dinkel et al. (454).

Le Guern et al: Tamaño renal normal según edad gestacional.



DS: en francés, desviación estándar. *Semaines*: en francés, semanas. Longueur (mm): en francés, longitud en mm

E. Dinkel et al.: Sonographical kidney size in childhood

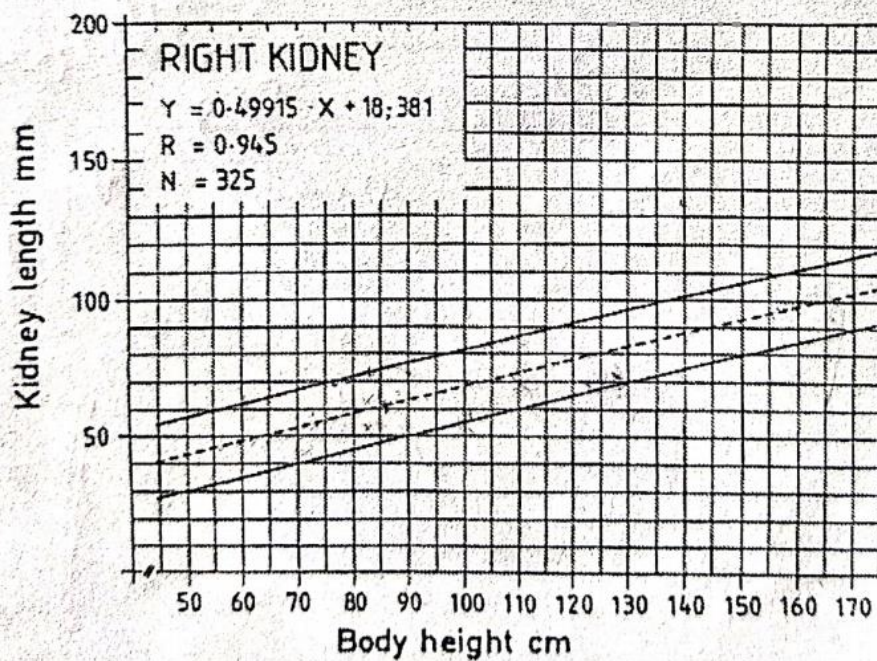
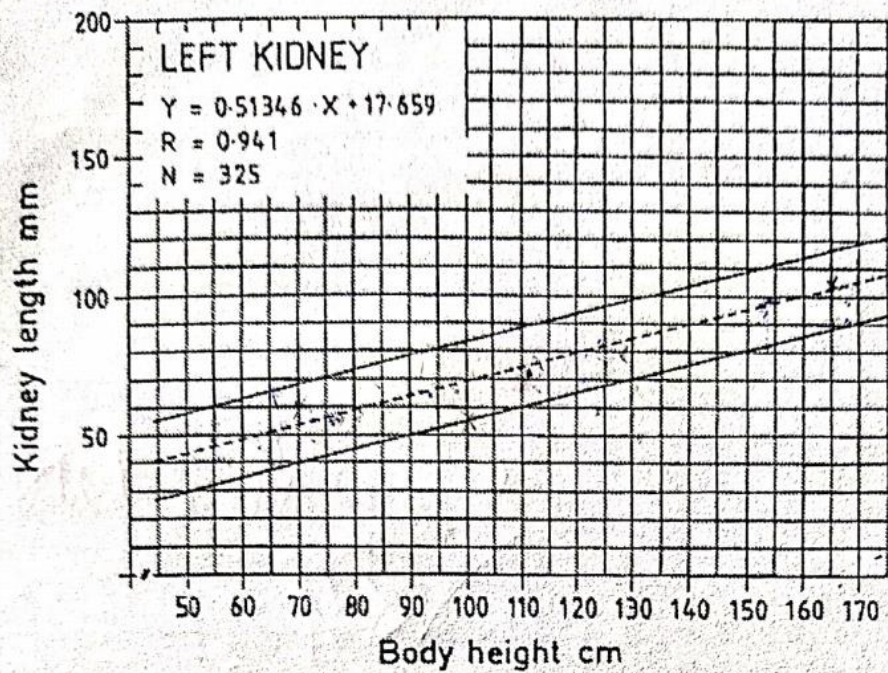


Fig. 6. Length of both kidneys related to body height. Mean values and the 95% regions of tolerance are determined by routine statistical analysis of 325 children

Kidney length: en inglés, tamaño renal (mm). *Body height:* en inglés, talla (cm)

Anexo 6. Primers empleados para la amplificación mediante PCR y secuenciación del gen *CLCNKB*

Exón/ Promotor	Cebador directo (5'-3')	Cebador antisentido (5'-3')	Tamaño del fragmento de PCR (Pares de bases)
Promotor	* CTCTCCCCATTACAGGGTG † CGGCCTCCGTGATCTTAGAC	* TGGACAGGTGTGTGTTCCAA † AGCATGACCACAGCCTCC	966
1	* CTCTGTGCAGCTATGGTGGG	* CTGTCCACCTATGAGCACCC	429
2	‡ ACTGGAAGGGCCTAGAGGCAGT	‡ GATGTCCTGAGTGGTCCTCCAG	‡‡231
3	§ CACTGTGTCACTACTGTCACC	§ AGGAGTAAAGCCAGGACCAGA	‡‡460
FD	¶ TGCCCCACCCTGTGCCGTGAC	¶ GGGTGGTTGGGATGCCCTCAC	2558
4	# GAGGCTGTGGGTGCCTCCCTG	# AGTGGGGACTGGCGTAGCGAC	200
5-7	§ AGATCTTGTCCCAAGGAAA † AGTGGTATGGGCAGGGGT † CACCTGTCTGTGATGATGG	§ GGCTGAAGTGAGAACTAGAATGA † AGGTAGGCAGCCATCATCAC † GGGTAGGGTGGTTGGGA	‡‡950
FE	¶ CCCTCCTGGCCCTGCCAC	¶ AGCTCGCTGAGAGGTCCCCAG	2082
8	# GGAGGGCCACCTGAGATCAG	# GCAGGGCCAGGTGAGGCAG	193
9-10	# CGCCATCTTGGCTCCCCACTG	# AGCTCGCTGAGAGGTCCCCAG	374
11-12	§ CTGACCCACAGGTTCTGT † GCCTCCTTTGCGTGTAT † GGTTACCATCTTTGGGA	§ ** CCAGGGCAGAGGTTAGAGGC † TAACCAGGAAGAAGGCAAGG † CTGACCTCCC GAAGCTGTAG	‡‡1099
FF	¶ GTCGGGCTCTGGGCTCATGTC	¶ CAGTCAGCCTGAGGTGGGCAC	2660
13-14	# TCTAGGACACTCCCTGTCCC	# CCCTGGGGAACCACCAGCCAA	519
15	†† CATCACTCCCTCGTGGCTCCTG	†† CTACGGTGGCGTTTCTTTTTCG	‡‡518
16	†† GCTAAAGTGGAGCTGGTCTG † CCACAGCATACCCACT	†† GCAACAAGGATTTGGAGG † CACAACCTTGACCACCTCCT	‡‡750
17-18	§ CACAATAGCCCCATAGGAACA † GGTCAGAGAGAGGCATCCTG	§ CTCTCCCACTTCCCTCATCTC † ATGTCCTGGAGACACTGCTG	‡‡672
19	GGGCACCTTCTACCCTCCAGTG	GTCTTCTCAGGCATAGGTTCCCTG	‡‡187
20	CTACATCCCCCGCACCACCAC	AGGGTCTCAGCCCAACCTC	‡‡153
7-10	GGCTGACTCTGAGCCCTGGAC	CAGGAACAATAGGTTGAGCTCCA	1431
7	GGCTGACTCTGAGCCCTGGAC	CTGGGTCCTCAAGCTCCTC	

Secuencia de referencia utilizada: Ensembl: ENST00000375679; Las bases que difieren del gen *CLCNKA* (Ensembl: ENST00000331433) están en negrita; * Cebadores diseñados; † Cebadores internos diseñados para la secuenciación; ‡ Cebadores previamente diseñados [194]; § Cebadores previamente diseñados [195]; || Cebadores cortésmente proporcionados por el Hôpital Européen Georges Pompidou, Service de Génétique, Paris; ¶ Cebadores específicos para *Long-Range* PCR; # Cebadores específicos para la *Nested*-PCR; ** Cebador antisentido modificado (última base eliminada porque es un SNP); †† Cebadores previamente diseñados [196]; ‡‡ Cebadores con cola M13 para la secuenciación (cebador directo-TGTAACAACGACGGCCAGT- cebador antisentido-CAGGAAACAGCTATGACC).

Anexo 7. Consentimiento informado para el estudio genético del gen *CLCNKB***CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA OBTENCIÓN DE MATERIAL GENÉTICO**

Nombre del paciente:

Fecha de nacimiento:

No de historia:

Nombre del profesional solicitante:

Servicio y centro hospitalario:

Antecedentes del tema y objetivos del estudio

Las tubulopatías primarias, se asocian a diversas manifestaciones clínicas que pueden comprometer el pronóstico y calidad de vida de los pacientes. Estas enfermedades, pueden tener una base genética, cuya identificación supone el único diagnóstico de certeza en los casos de carácter hereditario.^[1] El objetivo de este portal clínico, www.renaltube.com, es avanzar en el conocimiento actual que existe sobre las tubulopatías hereditarias. Para ello, se recogerán datos epidemiológicos, clínicos y analíticos de pacientes con estas enfermedades, que serán incluidos en una base de datos, para su posterior análisis. Al mismo tiempo, se realizará un estudio genético, tratando de identificar mutaciones en los genes implicados en estas enfermedades.

Beneficios del estudio

Este estudio pretende ampliar el conocimiento que existe actualmente sobre estos desórdenes tubulares. El análisis genético ofrecerá un diagnóstico de certeza de la enfermedad, facilitando el abordaje clínico del paciente con una mejor adecuación de las pautas de tratamiento y un seguimiento más protocolizado, disminuyendo la aparición de complicaciones y mejorando el pronóstico del mismo.

No existen riesgos médicos adicionales asociados a la participación en este estudio, salvo los indicados posteriormente en relación con la extracción de muestra sanguínea.

Mantenimiento del contacto con los pacientes

Debido al habitual carácter permanente de esta enfermedad y la necesidad de un seguimiento a largo plazo de la misma, es posible que exista algún cambio en el profesional médico responsable del paciente. Para evitar problemas derivados de esta posibilidad, deberá plantear esta modificación a su médico.

Extracción de sangre para estudio de ADN

La finalidad de obtener y estudiar su ADN es el análisis de los genes específicos que puedan estar relacionados con su enfermedad. La obtención de ADN se realiza mediante la extracción de una muestra de sangre, de un modo similar a la que se realiza para un análisis de rutina. Los efectos secundarios son los propios de este tipo de extracción: mareos, desmayos, dolor, hemorragia, formación de hematomas y, en muy raras ocasiones, infección.

Participación, confidencialidad y protección de datos

La participación en el estudio es completamente voluntaria. La información remitida por el profesional médico a Renaltube permitirá la inclusión de los datos médicos del paciente en una base de datos, así como cualquier otra información clínica que surja en el curso del seguimiento. El paciente tiene derecho a presentar su renuncia a la participación en este estudio en cualquier momento, sin ningún tipo de repercusión en su asistencia médica. Para ello, deberá ponerse en contacto en primer lugar con su médico y éste notificará a Renaltube su retirada de la autorización.

La participación en este estudio es anónima y confidencial. Se garantizará la preservación de su identidad personal y la confidencialidad en todo momento, de acuerdo con la Ley Básica 41/2002, de 14 de noviembre, Reguladora de la Autonomía del Paciente y de Derechos y Obligaciones en materia de información y documentación clínica. A cada paciente se le asignará un código de identificación. Todos los datos introducidos de cada paciente se guardarán de manera confidencial, a través del código asignado. El profesional médico de cada paciente será quien establezca de manera individualizada la frecuencia de las revisiones. El médico podrá actualizar la información introducida en la base de datos, a medida que aparezcan nuevos datos en el curso de la enfermedad, pero siempre a través de un código identificativo asignado aleatoriamente. La identidad de las personas no será desvelada en posibles publicaciones futuras.

Por el presente documento: Autorizo al aislamiento de ADN a partir de una muestra de sangre con el fin exclusivamente de estudiar desde el punto de vista diagnóstico:.....

Su muestra de ADN también puede ser conservada y utilizada para futuros estudios, si usted muestra su aprobación (Marque la casilla de su elección):

Sí, deseo que mi muestra se conserve para estudios posteriores. No, prefiero que mi muestra sea eliminada después de este estudio.

1o. He sido informado(a) de los riesgos derivados de una extracción rutinaria de sangre: posibilidad de dolor y generación de un hematoma local. Siempre que sea posible, se hará coincidir la extracción de esta muestra con otra extracción de sangre indicada por otro motivo asistencial. En ese caso, simplemente se obtendría un volumen mayor al necesario para el análisis asistencial, minimizando así las molestias para el implicado.

2o. He sido informado(a) de que, con relación a los estudios realizados, la confidencialidad será mantenida en todo momento y la identidad de las personas estudiadas no será desvelada en caso de publicaciones.

3o. En caso de que el estudio que se realice obtenga resultados con alguna utilidad diagnóstica, esta información será transmitida inmediatamente a los médicos responsables del seguimiento clínico de la familia mediante informe escrito. Los investigadores responsables estarán disponibles para responder a cuestiones relacionadas con el estudio en curso.

Yo/nosotros.....

He/hemos sido informado(s) y he/hemos entendido correctamente los detalles del estudio de investigación en el que yo/nosotros, mi hijo/a voy/vamos/va a ser incluido/s, sus beneficios potenciales y riesgos. He/hemos podido realizar las preguntas aclaratorias necesarias. Comprendo/hemos que la participación es voluntaria y que uno se puede retirar del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que ello repercuta en los cuidados médicos.

En....., a de 2.0.....

Firma del paciente

En caso de incapacidad
Firma del Representante legal

Firma del médico/investigador

D.N.I.

D.N.I.

Anexo 8. Consentimiento informado para el uso del material médico con fines docentes o de investigación científica

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA USO DEL MATERIAL MÉDICO CON FINES DOCENTES O DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

Se solicita su consentimiento para incluir datos de su historial médico en una base de datos de pacientes con Síndrome de Bartter. Esta base de datos está diseñada con el objetivo de avanzar en el conocimiento que existe actualmente sobre su enfermedad y así mejorar la asistencia médica que se ofrece a estos pacientes. Otros pacientes con su misma enfermedad también participan en este proyecto y sus datos serán también incorporados a la base de datos.

A partir de su historial médico recogeremos datos epidemiológicos, clínicos y bioquímicos y los incluiremos en el registro. Su médico podrá actualizar la información introducida a medida que aparezcan nuevos datos en el curso de su enfermedad. Los datos disponibles serán analizados, lo que permitirá conocer y comprender mejor la complejidad de esta enfermedad y facilitará un diagnóstico más precoz, unas pautas de tratamiento más adecuadas y un seguimiento más protocolizado, disminuyendo la aparición de complicaciones y mejorando el pronóstico de esta enfermedad.

Su participación es anónima y se garantizará la preservación de su identidad personal y la confidencialidad en todo momento, de acuerdo a la normativa legal vigente en España (Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de Desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y la Ley Básica 41/2002, de 14 de noviembre, Reguladora de la Autonomía del Paciente y de Derechos y Obligaciones en material de información y documentación clínica).

Si usted desea más información puede consultar también la página web.

Yo/nosotros.....

He/Hemos sido informado/s y he/hemos entendido correctamente los detalles del estudio de investigación en el que voy/mi hijo/a va a participar, sus beneficios potenciales y riesgos. He/Hemos podido realizar las preguntas aclaratorias necesarias.

Comprendo/Comprendemos que la participación es voluntaria y que uno se puede retirar del estudio cuando quiera, sin tener que justificar mi decisión y sin que ello repercuta en los cuidados médicos recibidos.

En consecuencia, doy mi Consentimiento para la utilización de datos de mi historia clínica en este estudio.

En....., a de 2.0.....

Firma del paciente

En caso de incapacidad,
firma del Representante Legal

Firma del médico/investigador

DNI

Anexo 9. Aprobación del proyecto por el Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos de Euskadi



INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS DE EUSKADI (CEIm-E)

Nagore García Goitiandia
Secretaria del CEIm de Euskadi (CEIm-E)

CERTIFICA

Que este Comité, de acuerdo a la ley 14/2007 de Investigación Biomédica, Principios éticos de la declaración de Helsinki, el Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano, y se regula el funcionamiento y organización del Registro Nacional de Biobancos para investigación biomédica y resto de principios éticos y legislación aplicables, ha evaluado el proyecto de investigación titulado **Desarrollo del diagnóstico genético de tubulopatías primarias mediante la aplicación de la tecnología de secuenciación masiva y traslación clínica de los conocimientos obtenidos.**

Código interno: PI2019214 (DOCENTE)

Versión del Protocolo: Versión 1 del 14 de noviembre 2019

Versión de la Hoja de Información al Paciente:
GENERAL / Versión 17 de enero 2020
MENOR DE EDAD (12-17 AÑOS) / Versión 1 del 9 de noviembre 2019

Y que este Comité, reunido el día 29/01/2020 y recogido en Acta 02/2020, ha decidido emitir informe favorable a que dicho proyecto sea realizado por el siguiente personal investigador:

- Leire Gondra Sangróniz (*Pediatría*) Hospital Universitario Cruces

Así mismo se emite informe favorable a la cesión de muestras del Biobanco Vasco.

Lo que firmo en Vitoria, a 10 de febrero de 2020



Nagore García Goitiandia
Secretaria del CEIm de Euskadi (CEIm-E)

Nota: Se recuerda la obligación de:

- Incluir en Osabide la alerta correspondiente a cada paciente, de que se encuentra bajo estudio o ensayo clínico
- Enviar un **informe de seguimiento anual** y el **informe final** que incluya los resultados del estudio (si el estudio dura menos de un año, con el informe final será suficiente). Más información en la página web del CEIm-E: <http://www.euskadi.eus/comite-etico-investigacion-clinica/>

Anexo 10. Características clínicas de la cohorte al diagnóstico clínico de la enfermedad

Sexo: hombre (H), mujer (M). **Datos perinatales** presencia (+) o ausencia (-) de polihidramnios (PH). La edad gestacional (EG) en semanas (en negrita los pretérminos) y el peso de recién nacido (PRN) en gramos. **Edad:** La edad al diagnóstico se muestra en años. **Año:** año en el que se diagnóstico la enfermedad. **Datos antropométricos:** peso y la talla en *z-score* (desviaciones estándar). El peso en los adultos se expresa en índice de masa corporal (kg/m²). En negrita se muestra los valores de peso y talla patológicos. **Plasma:** valores de sodio, potasio, cloro, bicarbonato en plasma en mEq/l. Calcio y magnesio en mg/dl. En negrita se muestran los valores patológicos. **Filtrado glomerular estimado (FGE):** en ml/min/1,73m². En los menores de un año se muestra la creatinina en mg/dl. Los pacientes con (*) presentaron una insuficiencia renal aguda al diagnóstico en contexto de deshidratación que se resolvió. En negrita se muestran los pacientes con enfermedad renal crónica. **Orina:** EF (excreción fraccionada expresada en %) de sodio, potasio y cloro en porcentaje, el índice de proteínas/creatinina (Pr/Cr) y el de calcio/creatinina (ca/cr) en mg/mg. En negrita se expresan los valores son patológicos. En el caso de la calciuria: hipercalciuria en negrita e hipocalciuria subrayado. **Otras características:** se muestran otras características clínicas así como hallazgos en la ecografía al diagnóstico de la enfermedad.

Paciente	Fenotipo Clínico/Sexo	Perinatal			Edad/Año	Antropometría		Plasma						Orina				Otras características	
		PH	EG	PRN		Peso	Talla	Na	K	Cl	Ca	HCO ³⁻	Mg	FGE	EFNa	EFK	EFCl		Ca/Cr
SOR 3	Antenatal/M	+	36	2810	6/1990	-1,3	-1,7	135	1,4	94	10,5	35	0,9	85	1,2	50	2,9	0,43	S.Fanconi secundario que se resuelve. Proteinuria mixta (tubuloglomerular 10 mg/m ² /hora) Hipercogenicidad renal, desdiferenciación corticomedular bilateral en ecografía.
SOR 5	Antenatal/M	+	40	3680	3,3/1989	-1,6	-1,0	136	2	85	9,4	28	2,2	100	2,8	50,5	4	0,5	Nefrocalcinosis bilateral
SOR 8	Clásico/M	-	40	2600	2/1977	-4,8	-3,5	135	2	88	9,7	28	1,6	44*	1,5	62,3	2,1	0,3	-
SOR 9	Antenatal/M	+	36	2650	2/1972	-4,5	-3,5	143	1,7	96	10	20	1,6	80	2	1,7	2	<u>0,02</u>	Hipercogenicidad renal en ecografía que persiste a lo largo de la evolución
SOR 23	Clásico/H	-	38	2430	1,8/1992	-3,6	-2,2	139	3	85	-	24,3	1,9	131	1,2	27,5	2,1	0,73	-
SOR 24A	Clásico/M	-	40	4100	0,9/1985	-4,8	-3,8	130	1,8	94	9,8	32	1,6	(Cr 0,3)	-	-	-	0,4	-
SOR 24B	Gitelman/M	-	40	3200	17/1991	1,0	-1,8	137	2,9	96	10	33	1,3	110	-	-	-	<u>0,03</u>	-
SOR 25	Gitelman/M	-	40	2750	2,3/1997	-3,7	-2,0	130	2,4	95	10,7	26,7	1,3	106	1,2	34,5	0,2	0,6	-

SOR 26	Antenatal/M	+	40	2500	0,7/1999	-3,7	-1,9	129	3,1	88	10,6	37	2,5	(Cr 0,2)	0,1	7,2	0,2	0,2	-
SOR 39	Clásico/M	-	41	3030	0,5/2004	-4,0	-2,3	130	1,6	89	10,1	28	2,8	(Cr 0,3)	2,3	54,6	3,5	0,2	-
SOR 45	Antenatal/H	+	40	3270	0,7/2006	2,0	-2,3	133	2,3	78	-	40	2,3	(Cr 0,3)	0,4	38	1,3	0,4	-
SOR 47	Clásico/H	-	41	4160	0,6/2008	-3,5	-1,9	137	2,5	81	10,8	31	3,1	(Cr 0,3)	1	23	1	0,15	Precisa botón de gastrostomía los primeros meses para la alimentación. Riñón en herradura
SOR 48	Antenatal/M	+	42	2850	2/2009	-2,3	-1,2	126	2,9	82	10,5	27	2,9	170	0,6	14,2	0,2	0,6	-
SOR 50	Clásico/H	-	38	3300	0,7/1994	-5,3	-5,3	140	2,2	92	8,9	31,4	2,1	(Cr 0,2)	2	50	2	<u>0,03</u>	-
SOR 51	Gitelman/H	ND	ND	ND	25/1995	²³ _(IMC)	-2,0	135	0,7	96	9,6	23,6	1,4	32	1,5	50	2	0,5	Parada cardiorrespiratoria y Rabdomiolisis. Litiasis unilateral que persiste a lo largo de la evolución.
SOR 54A	Clásico/H	-	42	5000	0,5/1983	-0,6	-0,3	135	2,9	80	-	33	1,6	(Cr 0,3)	3	42	1	0,29	
SOR 54B	Clásico/M	-	38	5000	0,3/1992	-1,8	-0,5	130	2,1	80	10,6	32	1,6	(Cr 0,2)	-	-	-	0,4	
SOR 54C	Clásico/M	-	38	3350	0,3/1992	-0,6	+0,2	145	2,2	85	-	32	2,2	(Cr 0,3)	-	-	-	0,45	
SOR 57	Antenatal/M	+	36	2870	0,7/2009	-6,0	-3,5	135	2,3	87	10,7	35,2	2,8	(Cr 0,3)	0,1	25	0,5	0,65	Hiperecogenicidad renal en ecografía que persiste a lo largo de la evolución. Nefrocalcinosis.
SOR 62	Clásico/H	-	40	3450	3/2010	-1,9	-2,7	130	1,9	89	9,7	31	2,4	121	0,9	42	1,4	1,1	
SOR 63	Clásico/M	-	41	2800	0,4/2010	-1,0	-3,0	135	2,7	89	11,8	33,5	2,3	(Cr 0,3)	0,3	35	1,6	0,12	
SOR 64	Antenatal/H	+	41	2610	0,8/2010	-2,5	-1,7	135	3	81	9,4	33,5	2,2	(Cr 0,2)	0,9	50	2	0,5	
SOR 73	Clásico/M	-	40	2900	0,7/2006	-3,2	-,9	139	3,2	94	10,4	30	2,2	(Cr 0,3)	0,1	25	0,3	0,38	
SOR 80	Clásico/H	-	40	2800	6/2004	-1,0	-4,5	135	2,3	85	10,7	29,8	2,2	60	1,4	23	1,1	0,06	Retraso escolar. Trastorno de déficit de atención e hiperactividad.

SOR 81	Clásico/H	-	38	2850	4/2011	-2,0	-1,3	135	2,4	86	10,4	35	2,2	132	1,5	20	1	0,07	Hidronefrosis leve sin reflujo vesicoureteral
SOR 84	Antenatal/H	+	38	2880	0,6/2011	-2,4	-0,8	137	2,9	83	10,8	29,4	2,4	(Cr 0,2)	0,6	20	0,6	0,12	Microdelección en cromosoma 22
SOR 90	Clásico/H	-	39	3500	0,5/2011	-3,4	-1,4	123	1,6	87	9,2	60	1,6	(Cr 0,3)	3,8	-	0,5	2	Nefrocalcinosis
SOR 97	Clásico/M	-	41	3665	0,1/2013	-1,0	-1,4	121	3	67	11,6	28	1,6	(Cr 0,2)	-	-	-	1,8	-
SOR 100	Clásico/M	ND	ND	ND	26/1984	ND	ND	138	3,2	87	10,1	26	2,5	47	-	50	-	0,4	-
SOR 103	Neonatal/H	-	35	1460	0,02/2007	-1,0	-0,2	130	2,9	93	9,4	27	2	(Cr 0,22)	1,3	35	3	1,2	-
SOR 104A	Antenatal/H	+	39	3150	0,18/2001	-1,7	+0,2	125	2,9	85	9,8	38	1,8	(Cr 0,15)	2	28	2	0,1	Hiperecogenidad renal transitoria al diagnóstico en la ecograf
SOR 104B	Antenatal/M	+	34	2750	0/2005	-1,4	+0,3	140	2,8	92	10	29	2	(Cr 0,3)	3	15	4,7	1	Hiperecogenidad renal transitoria en la ecograf
SOR 105	Clásico/M	-	38	3000	5/21983	-1,6	-1,9	139	2,9	91	9,5	32	2,1	104	0,7	20	-	0,17	-
SOR 109	Clásico/M	-	38	3000	1,17/2012	-2,4	-4,5	128	1,8	96	10,3	36	2,6	98	1,7	-	0,6	0,54	Fenotipo peculiar con cara triangular, frente amplia y ojos grades. Desarrollo neurológico normal.
SOR 111	Clásico/H	-	38	3180	0,1/2013	-2,1	-2,1	130	2,9	90	-	34	2,2	(Cr 0,2)	-	21	-	0,4	-
SOR 114	Neonatal/M	-	37	2620	0,03/2014	-,9	0,3	126	2,4	83	9,3	30	2,1	(Cr 0,3)	1,2	35	2,3	0,07	-
SOR 115	Gitelman/M	-	39	3600	17,3/1982	-2,5	-2,4	138	2	90	9,5	32	1,2	76	2	78	2,3	<u>0,02</u>	-
SOR 123	Clásico/M	-	37	2800	0,3/2007	-2,0	-2,3	128	1,4	90	9,7	26	2,3	(Cr 0,3)	0,4	10,5	1	0,8	-
SOR 124A	Clásico/M	-	37	3010	0,67/2012	-3,0	-1	137	3,2	94	9,2	50	1,7	(Cr 0,2)	0,3	10,5	0,2	0,2	-
SOR 124B	Neonatal/M	+	32	2780	0,5/2016	-3,4	-4	130	1,4	89	8,9	36	2,2	(Cr 0,2)	0,1	-	0,1	0,1	-
SOR 129	Clásico/H	-	37	2900	3,16/1999	-1,5	-4,4	138	2,4	96	-	37	2,2	128	-	15	-	0,4	-
SOR 132	Antenatal/H	+	33	2075	0,66/2015	-2,8	-2,1	135	2,6	86	10,1	33	2,5	(Cr 0,1)	0,2	18	0,2	0,12	-

SOR 137	Antenatal/H	+	33	1500	0,08/2016	-4,0	-5,0	130	2	87	9,9	34	2,5	(Cr 0,2)	1,6	25	1,3	2	-
SOR 143	Clásico/M	-	41	3260	0,5/2014	-1,5	-0,6	130	2,9	88	9,3	25	1,7	(Cr 0,1)	0,6	12,3	1	0,20	-
SOR 163	Clásico/H	-	40	3120	14/2017	-2,0	-0,9	138	2,4	90	-	34,7	2,4	143	0,2	57,7	0,8	0,3	Hiperecogenidad renal transitoria en la ecografía al diagnóstico.
SOR 186	Antenatal/M	+	39	3770	0,67/2018	-2,3	-2,7	135	2,4	87	10	37,5	2,5	(Cr 0,6)*	-	60	-	0,4	Hiperecogenidad renal en ecografía que no estaba presente al diagnóstico.
SOR 195	Gitelman/H	ND	ND	ND	23/1994	²² (IMC)	-0,8	140	2	85	10	35	1,3	120	0,5	56	1	<u>0,02</u>	-
SOR 196	Clásico/M	ND	38	3100	0,75/2017	-4,3	-4,5	130	2,3	85	11	35	2	(Cr 0,3)	0,4	8,8	1	0,07	-
SOR 197	Clásico/M	-	38	2880	1,66/2015	-2,5	-2,0	138	3	95	-	25	2,5	72	1,4	38,4	0,3	0,3	-

Anexo 11. Características clínicas de la cohorte al final del estudio

La **edad al final del estudio** se muestra en años. **Datos antropométricos**: peso y la talla en *z-score* (desviaciones estándar). El peso en los adultos se expresa en índice de masa corporal (kg/m^2). En negrita los valores patológicos. Se marcan con (*) los adultos que no alcanzaron la talla diana, **Plasma**: valores de sodio, potasio, cloro, bicarbonato en plasma en mEq/l . Calcio y magnesio en mg/dl . En negrita se muestran los valores patológicos. **Filtrado glomerular estimado (FGE)**: en $\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$. En negrita se muestran los pacientes con enfermedad renal crónica. **Orina**: índice de proteínas/creatinina (Pr/Cr) y el de calcio/creatinina (ca/cr) en mg/mg . En negrita se expresan los valores son patológicos. **Nefrocalcinosis**: se subrayan los pacientes que presentaban nefrocalcinosis desde el diagnóstico de la enfermedad. **Otras características**: se muestran otras características de los pacientes al final del estudio o que ocurrieron durante el seguimiento. LEOC: litroticia extracorpórea por ondas de choque. AINEs: antiinflamatorio no esteroideo. ND: No determinado.

Paciente	Edad	Antropometría		Plasma						Orina		Nefrocalcinosis	Otras características	
		Peso	Talla	Na	K	Cl	Ca	HCO ⁺	Mg	FGE	Ca/Cr			Pr/Cr
SOR 3	34,7	22 (IMC)	-0,6	135	3,50	102	10,5	34	2,4	37	0,15	0,4	No	Hipercogénicidad renal, desdiferenciación corticomedular bilateral en ecografía desde el diagnóstico de la enfermedad. Quiste simple en polo inferior de riñón izquierdo al final del estudio. Trastorno de ansiedad. Úlceras gástricas de repetición secundarias a AINEs. Se suspende indometacina.
SOR 5	32,5	24,8 (IMC)	+0,1	138	3,00	100	10,3	27	2,2	59	0,3	0,15	<u>Si</u>	Infecciones urinarias por <i>Escherichia coli</i> y <i>Proteus mirabilis</i> , litiasis coraliformes bilaterales infancia, LEOC (2 sesiones) + obstrucción vía urinaria a los 30 años (Riñón derecho: colocación doble J; riñón izquierdo colocación de nefrostomía). Embarazos (3): un aborto en primer trimestre. Múltiples ingresos durante el embarazo por hipopotasemia.
SOR 8	43,5	17 (IMC)	+0,7	140	3,00	99	10	27	2	132	0,3	0,16	No	Embarazos (3): dos abortos en la semana 8 y 37. En esta última anatomía patológica de placenta: microinfartos. No complicaciones durante los embarazos.
SOR 9	48	23 (IMC)	-0,2	140	4,00	100	10,4	27	1,2	44	<u>0,02</u>	0,5	No	Hipercogénicidad renal bilateral
SOR 23	28	20,7 (IMC)	-2,1	136	3,00	89	10,2	27	2,1	115	0,3	0,15	No	Gastropatía crónica secundaria a AINEs. Se suspende indometacina
SOR 24A	34,3	21,5 (IMC)	+0,3	138	2,30	98	10	29	1,8	111	0,18	0,18	No	-
SOR 24B	44	20,7 (IMC)	+0,8	137	2,60	105	9,8	34	1,9	122	0,19	0,17	No	-
SOR 25	24	19,3 (IMC)	-0,5	137	3,40	102	9,5	31	2	140	0,20	0,15	No	Varios ingresos por hipopotasemia.

SOR 26	20,5	20,2 (IMC)	+0,1	138	2,40	95	10	38	2,5	140	<u>0,02</u>	0,15	No	-
SOR 39	15	-0,7	-1	138	2,90	102	9,9	25	2,9	92	0,04	0,15	No	-
SOR 45	13	-3,4	-2,1	139	3	94	10,1	33	2,4	102	0,4	-	No	Infecciones urinarias, litiasis unilateral (LEOC a los 16 meses)
SOR 47	10,7	-0,13	-1,5	137	2,7	99	10,4	24	2,1	95	0,38	0,10	No	-
SOR 48	11,7	-0,9	-1	138	3,2	100	10,3	31	1,7	110	0,06	0,20	Si	-
SOR 50	25,4	²² (IMC)	-1,6	140	3,2	101	10,1	28	1,9	110	<u>0,03</u>	0,11	No	Múltiples ingresos por deshidratación e hipopotasemia.
SOR 51	48,5	34 (IMC)	-0,6	134	5	95	9,9	30	2	12	0,19	1,10	No	Litiasis unilateral desde el diagnóstico. Obesidad, dislipemia, brocopatía crónica, pancreatitis crónica al final del estudio. Mal a adherencia al tratamiento, múltiples ingresos por hipopotasemia. Cuadro ansioso-depresivo.
SOR 54A	26,7	ND	ND	134	2,8	95	9,8	25	1,6	67	0,20	0,2	ND	Palpitaciones, calambres
SOR 54B	36	20,1 (IMC)	+0,7*	139	3,2	95	10,3	35	2	112	0,2	0,2	No	Palpitaciones
SOR 54C	26,7	ND	ND	145	2,7	99	10,1	33	2	69	0,15	0,2	ND	-
SOR 57	10	-1,7	-3	137	3,2	100	10,7	26	2,1	139	<u>0,01</u>	0,05	Si	Hipercogenecidad renal bilateral que persiste a lo largo de la evolución. Múltiples ingresos por hipopotasemia.
SOR 62	11	ND	ND	130	3,3	94	9,7	33	2,3	116	0,18	0,13	No	-
SOR 63	9	+1,25	-0,7	133	4	94	10,4	39	1,7	118	<u>0,02</u>	0,2	No	Ingreso por hipopotasemia por suspender tratamiento previo a una intervención quirúrgica. Dolor abdominal secundario a AINEs.
SOR 64	9	-0,2	-0,4	136	3,2	102	9,8	33	2,1	154	0,11	0,2	No	-
SOR 73	13	-1	-1,4	139	3,9	100	10,4	34	2,3	105	0,18	0,1	No	Diarreas secundarias a los suplementos orales de potasio precisando disminuir la dosis.
SOR 80	20,5	²⁷ (IMC)	-1	136	3,2	85	10,7	30	2,1	35	<u>0,02</u>	0,6	Si	Varios ingresos por hipopotasemia. Cuadro ansioso-depresivo
SOR 81	11,7	ND	ND	137	2,4	95	10,4	31	2,3	110	0,15	0,2	No	Dolor abdominal intermitente.
SOR 84	8	-0,6	-2,7	137	3	100	10,4	27	2	120	<u>0,00</u>	0,2	No	Dolor abdominal intermitente.
SOR 90	8	-3	-6,7	139	2,6	93	9,2	28	1,6	99	0,30	0,2	Si	Mala adherencia al tratamiento. Múltiples ingresos por deshidratación e hipopotasemia.

SOR 97	6	-1,8	-1,6	139	3,5	90	10,4	30	1,6	105	0,18	-	No	Diarrea asociada a los suplementos de potasio precisando disminuir la dosis.
SOR 100	61	29,4 (IMC)	+0,7	138	4,3	95	10,1	29	2,4	26	0,20	0,5	Si	-
SOR 103	12	-0,36	-0,4	139	2	101	9,9	25	2	110	0,04	0,20	No	-
SOR 104A	13,7	-0,5	-2	137	3,6	94	10,1	29	1,7	108	0,05	0,20	No	Un episodio de colelitiasis en la infancia. Trastorno de ansiedad. Dolor abdominal secundario a AINEs.
SOR 104B	17,3	-0,8	-0,4	140	3	95	10,2	33	1,4	138	<u>0,01</u>	0,20	No	Púrpura trombocitopénica inmune en la infancia suspendiéndose el ibuprofeno, meses después de prescribe indometacina.
SOR 105	41	ND	ND	139	2,8	95	10,2	28	2,2	135	<u>0,03</u>	0,20	No	Dos embarazos sin complicaciones.
SOR 109	7	-1,4	-1,5	137	2,8	96	10,3	28	2,1	105	0,2	0,50	No	<i>Fascies</i> triangular, frente prominente, ojos grandes
SOR 111	6	-2	-1,5	138	3,5	103	9,8	33	2,5	108	0,18	-	No	Múltiples ingresos por deshidratación e hipopotasemia
SOR 114	5	-2	-1,5	137	3,9	95	9,5	33	2,2	112	0,07	0,05	No	Quistes corticales renales bilaterales no presentes en la ecografía al diagnóstico
SOR 115	54	ND	ND	138	3,5	93	9,8	30	1,6	52	0,05	0,20	No	Calambres, palpitaciones, debilidad, ECG normal
SOR 123	12	-2,0	-6,6	139	2,1	98	10,1	30	2,2	59	0,4	0,20	No	Mala adherencia al tratamiento. Múltiples ingresos por deshidratación e hipopotasemia.
SOR 124A	3	-2,1	-0,9	137	2,4	101	10,2	29	2,2	100	0,2	0,10	No	Múltiples ingresos por dehidratación e hipopotasemia.
SOR 124B	7	-2	-2,7	139	3	94	10,1	28	1,7	99	0,5	0,10	No	-
SOR 129	23	23,6 (IMC)	-3,4 *	138	2,63	95	9,9	33	1,7	123	0,15	-	No	Mala adherencia al tratamiento. Múltiples ingresos por hipopotasemia.
SOR 132	4	-2	-2,1	135	2,6	91	10,1	35	2,5	100	0,15	0,20	No	-
SOR 137	3	-1,8	-1,9	137	2,8	95	9,9	32	2,5	120	0,8	-	Si	Diarreas asociada a suplementos de potasio precisando disminuir la dosis
SOR 143	4,5	-2	-3,5	139	2,7	98	9,5	27	1,7	105	0,4	0,10	No	-
SOR 163	15	-1,5	-0,9	138	3,2	93	10,1	35	2,4	119	0,15	-	No	Dolor abdominal intermitente
SOR 186	1,4	-1,5	-1	133	2,8	90	10	29	2,5	105	0,30	0,50	No	

SOR 195	48	ND	-0,8	140	2,9	99	10	33	1,3	103	<u>0,01</u>	0,07	No	Intervalo QT largo. Síncopes de repetición. Calambres, palpitaciones. Cuadro ansioso-depresivo
SOR 196	2,2	-2,5	-2,5	138	3,2	99	10,5	32	2	95	<u>0,03</u>	-	No	-
SOR 197	5	-7	-1,4	138	3,2	103	10,2	28	2,5	70	0,2	0,20	No	-

Anexo 12. Tratamiento de los paciente de la cohorte al diagnóstico y al final del estudio.

En la columna de Potasio se muestra la dosis en mEq/kg/día. En la columna de AINEs se muestra la dosis en mg/kg/día. Los pacientes que recibían ibuprofeno se muestran con un (*) y con una “T” se muestra al paciente que recibía tolmetina (dosis desconocida). El resto de pacientes recibían indometacina. En el resto de columnas, se expresa si los pacientes recibían o no el fármaco.

Paciente	CINa		Potasio (mEq/kg/día)		Magnesio		AINEs		Omeprazol		IECAs		Espironolactona		Eplerrenona	
	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final
SOR 3			1,5	2,3			1,5	No		Si		Si		Si		
SOR 5			2	3,50		Si	2	1,5								Si
SOR 8			2,2	3,30			1,6	1					Si			
SOR 9			2	1		Si	1,5	0,5	Si	Si				Si		
SOR 23			1,5	2			1,5			Si						
SOR 24A	Si		5,6	5,6		Si	1,3	1,3	Si	Si			Si	Si		
SOR 24B			1,5	1,5	Si	Si	1,3	1,3					Si	Si		
SOR 25	Si		1,2	3	Si	Si	2	2	Si	Si			Si	Si		
SOR 26	Si		4,4	4			3	2,5								
SOR 39	Si		2,1	1,2			1,5	2	Si	Si						
SOR 45			4,4	4,4			1,5	2,5					Si	Si		
SOR 47	Si	Si	2	4			1,5	2	Si	Si			Si			
SOR 48			7	7,8			1,5	1,5								
SOR 50			3	2,5			1	1,2								Si
SOR 51			8	0,3	Si		No	No				Si				Si
SOR 54A			3	8		Si	1,5	2	Si	Si		Si	Si	Si		
SOR 54B	Si		3	3,5		Si	1,5	1,5	Si	Si		Si		Si		
SOR 54C			2	2		Si	2	3			Si	Si				Si
SOR 57		Si	2,5	9			T	T	Si	Si				Si		
SOR 62	Si		3	4			1,5	1,7	Si	Si				Si		
SOR 63		Si	2	1,7			1,5	1,7	Si	Si						
SOR 64			2,7	2			1,5	1,5								
SOR 73			2,5	0,8			25 *	25 *	Si	Si						
SOR 80			3	ND			0,7	0,7	Si	Si			Si	Si		
SOR 81			2,4	1,8			2,1	2	Si	Si						
SOR 84			2	2,6		Si	2	2								

SOR 90	Si	Si	20	20			1,5	1,5	Si	Si						
SOR 97	Si		2,5	0,5			1,5	1,6								
SOR 100			1	5,40			No	No				Si		Si		
SOR 103	Si		4,3	5,60			2,5	2,5	Si	Si						
SOR 104A			2	5,80		Si	30*	2,5	Si	Si				Si		
SOR 104B			5,5	1,5		Si	30*	30*	Si	Si	Si		Si			
SOR 105			2	4			No	No					Si	Si		
SOR 109	Si		8	4,7			10*	10*	Si	Si			Si	Si		
SOR 111	Si		4	10			0,2	1,2	Si	Si						
SOR 114	Si		2	1		Si	1	1,5	Si	Si		Si				
SOR 115			3	8	Si	Si	1,5	2						Si		
SOR 123	Si		10	2,7			2	2	Si	Si			Si	Si		
SOR 124A			1,5	0,7			3	3	Si	Si						
SOR 124B			0,5	10			3	3	Si	Si						
SOR 129			5	6			3,00	4,5	Si	Si				Si		
SOR 132	Si	Si	4,5	6			2,00	2					Si	Si		
SOR 137			14	2,5			0,70	1	Si	Si						
SOR 143	Si	Si	2	-			3,00	3	Si	Si						
SOR 163			1	2,5			2,00	2,2	Si	Si						
SOR 186			2,5	1,5			3,00	3								
SOR 195			1	3,5	Si	Si	1,00	1,5						Si		
SOR 196	Si		5,8	2,5			1,00	1,2								
SOR 197			2	1,8			1,30	1,2								

Anexo 13. Características moleculares de la cohorte.

En la columna de función se expresa el genotipo de cada paciente en relación a la pérdida de función que genera cada variante en la proteína CIC-Kb. PT: pérdida total o una conductancia residual de cloro menor del 20%. PP: pérdida parcial o una conductancia residual mayor del 20% en el canal del cloro.

Paciente	Nucleótido	Proteína	Exón	Tipo	Función
SOR 3	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 5	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 8	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 9	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 23	c.610G>A homo	p.Ala204Thr hom	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 24A	c.610G>A	p.Ala204Thr	7	<i>Missense</i>	PP
	c.(?-12)_(1961+?)del.	p.?	1-19	Gran deleción	PT
SOR 24B	c.610G>A	p.Ala204Thr	7	<i>Missense</i>	PP
	c.(?-12)_(1961+?)del.	p.?	1-19	Gran deleción	PT
SOR 25	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 26	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 39	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 45	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 47	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 48	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 50	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 51	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 54A	c.610G>A	p.Ala204Thr	7	<i>Missense</i>	PP
	c.1325A>G	p.Glu442Gly	14	<i>Missense</i>	PT
SOR 54B	c.610G>A	p.Ala204Thr	7	<i>Missense</i>	PP
	c.1325A>G	p.Glu442Gly	14	<i>Missense</i>	PT
SOR 54C	c.610G>A	p.Ala204Thr	7	<i>Missense</i>	PP
	c.1325A>G	p.Glu442Gly	14	<i>Missense</i>	PT

SOR 57	c.610G>A	p.Ala204Thr	7	<i>Missense</i>	PP
	c.1325A>G	p.Glu442Gly	14	<i>Missense</i>	PT
SOR 62	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 63	c.1192_1203del12	p.(Ile398_Thr401del)	12	Pequeña delección	?
	c.(?-12)_(1961+?)del.	p.?	1-19	Gran delección	PT
SOR 64	c.610G>A	p.Ala204Thr	7	<i>Missense</i>	PP
	c.508G>A	p.Val170Met	6	<i>Missense</i>	PP
SOR 73	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 80	c.1783C>T homo	p.Arg595Ter homocigosis	17	<i>Missense</i>	PT
SOR 81	c.1026delC	p.(Ser343Alafs*6)	11	<i>Frameshift</i>	PT
	c.1325A>G	p.Glu442Gly	14	<i>Missense</i>	?
SOR 84	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 90	c.753delG homo	p.(Leu252Serfs*97) homo	8	<i>Frameshift</i>	?
SOR 97	c.(?-12)_(1961+?)del. homo	p.?	1-19	Gran delección	PT
SOR 100	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 103	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 104A	c.(?-12)_(1961+?)d	p.?	1-19	Gran delección	PT
	c.1312C>T	p.Arg438Cys	14	<i>Missense</i>	PP
SOR 104B	c.(?-12)_(1961+?)del.	p.?	1-19	Gran delección	PT
	c.1312C>T	p.Arg438Cys	14	<i>Missense</i>	
SOR 105	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 109	c.18dupG	p.(Leu7Alafs*3)	2	<i>Frameshift</i>	PT
	c.371C>T	p.Pro124Leu	5	<i>Missense</i>	PT
SOR 111	c.18dupG	p.(Leu7Alafs*3)	2	<i>Frameshift</i>	PT
	c.610G>A	p.Ala204Thr	7	<i>Missense</i>	PT

SOR 114	c.1389delA homo	p.(Tyr466fs) homo	14	<i>Frameshift</i>	?
SOR 115	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 123	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 124A	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 124B	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 129	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 132	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 137	c.(?-12)_(1961+?)del.	p.?	1-19	Gran deleción	PT
	c. 170G>A	p.Gly57Glu	3	<i>Missense</i>	?
SOR 143	c.610G>A homoc	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP
SOR 163	c.610G>A	p.Ala204Thr	7	<i>Missense</i>	PP
	c. 170G>A	p.Gly57Glu	3	<i>Missense</i>	?
SOR 186	c.(?-12)_(1961+?)del. homo	p.?	1-19	Gran deleción	PT
SOR 195	c.1729G>A homo	p.Ala577Thr homo	16	<i>Missense</i>	?
SOR 196	c.(?-12)_(1961+?)del homo.	p.?	1-19	Gran deleción	PT
SOR 197	c.610G>A homo	p.Ala204Thr homo	7	<i>Missense</i>	PP

El trabajo de esta tesis doctoral ha sido subvencionado parcialmente por las siguientes instituciones:

- Beca del Departamento de Salud del Gobierno Vasco 2014 (expediente 2014111064): “Aplicación de la tecnología NGS (del inglés, *Next Generation Sequencing*) para optimizar el diagnóstico molecular de las tubulopatías primarias”.
- Beca del Departamento de Salud del Gobierno Vasco 2017 (expediente 2017111014): “Desarrollo del diagnóstico genético de tubulopatías primarias mediante la aplicación de la tecnología de secuenciación masiva y traslación clínica de los conocimientos obtenidos”.

Parte del resultado de este estudio se han comunicado en las siguientes publicaciones:

- García Castano A, de Nanclares GP, Madariaga L, Aguirre M, Madrid A, Nadal I, et al. Genetics of Type III Bartter Syndrome in Spain, Proposed Diagnostic Algorithm. *Plos One*. 2013;8(9).
- Castano AG, de Nanclares GP, Madariaga L, Aguirre M, Madrid A, Chocrón S, et al. Poor phenotype-genotype association in a large series of patients with Type III Bartter syndrome. *Plos One*. 2017;12(3).

