

Erbliche hypokaliämische Salzverlust-Tubulopathien

Martin Konrad, Nikola Jeck, Melanie Heß, Hannsjörg W. Seyberth

Universitäts-Kinderklinik, Marburg

Zusammenfassung

Die angeborenen hypokaliämischen Salzverlust-Tubulopathien, die häufig unter dem Begriff „Bartter-Syndrom“ zusammengefasst werden, sind eine sowohl klinisch als auch genetisch heterogene Gruppe von autosomal rezessiv vererbten Erkrankungen. Gemeinsame klinische Merkmale sind die hypokaliämische metabolische Alkalose und der hyperreninämische Hyperaldosteronismus bei normalem Blutdruck. Je nach zusätzlichen klinischen und biochemischen Befunden werden unterschieden: 1.) das Hyperprostaglandin-E-Syndrom, das durch ein Polyhydramnion, einen schweren renalen Salzverlust und eine Nephrokalzinose gekennzeichnet ist; 2) das klassische Bartter-Syndrom und 3) das Gitelman-Syndrom, die hypokalziurisch-hypomagnesiämische Verlaufsform. Die zugrunde liegenden molekularen Ursachen betreffen verschiedene Gene, die für Proteine kodieren, die die NaCl-Reabsorption entlang des Nierentubulus gewährleisten. Das Hyperprostaglandin-E-Syndrom ist eine genetisch heterogene Erkrankung, bei dem sowohl Mutationen im NaK₂Cl-Kotransporter NKCC2 sowie im Kaliumkanal ROMK beschrieben wurden. Das klassische Bartter-Syndrom wird durch Mutationen des Chloridkanals CLCNKB verursacht, während das Gitelman-Syndrom auf Veränderungen des NaCl-Kotransporters NCCT beruht. Für eine weitere Salzverlust-Tubulopathie, die mit Taubheit assoziiert ist, konnte bislang nur ein Genort auf Chromosom 1p31 beschrieben werden, die Identifizierung des Gendefektes steht noch aus.

Schlüsselwörter

Salzverlust-Tubulopathien, Bartter-Syndrom, Hyperprostaglandin-E-Syndrom, Gitelman-Syndrom, NKCC2, ROMK, NCCT, CLCNKB, 1p31

Summary

The term Bartter syndrome comprises a set of autosomal recessive hypokalemic salt-losing tubulopathies which represent clinically as well as genetically different disease entities. These disorders are characterized by hypokalemic metabolic alkalosis, hyperreninism and hyperaldosteronism with normal blood pressure. Additional clinical and biochemical findings led to the following classification: 1) Hyperprostaglandin E syndrome, which is characterized by polyhydramnios, severe renal salt wasting and nephrocalcinosis; 2) classic Bartter syndrome and 3) Gitelman syndrome, the hypomagnesemic-hypocalciuric variant. The underlying molecular defects concern different genes coding for proteins involved in NaCl reabsorption along the tubular epithelium. Hyperprostaglandin E syndrome is a genetically heterogeneous disorder caused by mutations in either the NaK₂Cl cotransporter NKCC2 or the renal potassium channel ROMK. The classic Bartter syndrome results from mutations in the renal chloride channel CLCNKB whereas in Gitelman syndrome mutations affecting the NaCl cotransporter of the distal nephron have been described. The exact molecular mechanism leading to a salt

losing tubulopathy associated with sensorineural deafness remains to be clarified, the implicated gene has been mapped to chromosome 1p31.

Keywords

Salt-losing tubulopathy, Bartter syndrome, hyperprostaglandin E syndrome, Gitelman syndrome, NKCC2, ROMK, NCCT, CLCNKB, 1p31

Klinisches Bild der hypokaliämischen Salzverlust-Tubulopathien

Die angeborenen hypokaliämischen Salzverlust-Tubulopathien, die auch heute noch häufig unter dem Begriff „Bartter-Syndrom“ zusammengefasst werden, sind eine sowohl klinisch als auch genetisch heterogene Gruppe von Erkrankungen. Rosenbaum und Hughes berichteten als erste über einen zwei Monate alten Patienten mit persistierender hypokaliämischer Alkalose, Diarrhoe, Hyposthenurie, Dehydratation und therapieresistenter Gedeihstörung. Der Junge verstarb in extremer Dystrophie mit 7 Monaten (Rosenbaum und Hughes 1957). Wenige Jahre später beschrieben Bartter et al. zwei ähnliche Patienten mit hypokaliämischem Salzverlust und der zusätzlichen Beobachtung, dass diese therapieresistente Hypokaliämie mit einer vermehrten Aldosteronbildung und einer Hypertrophie des juxtaglomerulären Apparates in der Niere einhergeht (Bartter et al. 1962). Seitdem sprach man bei der Kombination von hypokaliämischer Alkalose und Hyperaldosteronismus mit Normotension vom Bartter-Syndrom. In den folgenden Jahren wurden in ver-

Tab 1 Klinische und biochemische Merkmale der hypokaliämischen Salzverlust-Tubulopathien

	Gitelman-Syndrom	Klassisches Bartter-Syndrom	HPS / aBS
Manifestationsalter	Adoleszenz	1. Lebensjahr	pränatal
Polyhydramnion mit Frühgeburtlichkeit	-	- (+)	++
Polyurie	-	- (+)	++
Urin-Osmolalität	500 – 900	500 – 900	100 – 350
Kalziurese	↓	-	↑
Nephrokalzinose	-	- (+)	++
Serum-Mg ⁺⁺	↓↓	↔ / ↓	↔
PGE ₂ /PGE-M	↔ (↑)	↑	↑↑
Indometazinwirkung	- (+)	++	+++

(+) in Einzelfällen beobachtet

schiedenen Berichten eine Vielzahl von klinischen und laborchemischen Auffälligkeiten beschrieben, die eine Unterteilung in mindestens drei verschiedene Entitäten rechtfertigen:

1. Gitelman-Syndrom

Das Gitelman-Syndrom präsentiert sich in der Regel in der späten Kindheit oder im Jugendalter mit zunehmender Ermüdbarkeit, Muskelschmerzen, Obstipation, Tetanien, Carpedalspasmen sowie gelegentlich durch Gelenkbeschwerden, bedingt durch eine Chondrokalzinose (Gitelman et al. 1966, Rudin et al. 1984). Auch ein Minderwuchs wurde bei diesen Patienten in einigen Fällen beschrieben (Seyberth et al. 1998). Nicht selten wird die Diagnose erst nach einer zufällig entdeckten Hypokaliämie gestellt. Der renale Salzverlust ist relativ milde und wird selten symptomatisch. Die laborchemische Konstellation einer ausgeprägten Hypomagnesiämie, die für die meisten der oben genannten Symptome verantwortlich ist, zusammen mit einer Hypokalziurie wird von einigen Autoren als charakteristisch für das Gitelman-Syndrom angesehen.

2. Hyperprostaglandin-E-Syndrom/antenatales Bartter-Syndrom

Das Hyperprostaglandin-E-Syndrom oder das antenatale Bartter-Syndrom, im Folgenden als HPS/aBS bezeichnet, beschreibt ein potentiell lebensbedrohliches Krankheitsbild, das sich bereits pränatal manifestiert (Fanconi et al. 1971, Seyberth et al. 1985, Deschenes et al. 1993). Die fetale Polyurie führt gegen Ende des 2. Schwan-

gerschaftstrimenons zur Ausbildung eines Polyhydramnions und im weiteren Verlauf zu einer Frühgeburtlichkeit. Postnatal zeigt sich ein exzessiver renaler Salzverlust mit Iso- oder Hypostenurie und einer massiven Polyurie. In dieser ersten Phase steht eine hyponatriämische Dehydratation im Vordergrund, so dass differentialdiagnostisch auch ein Pseudohypoaldosteronismus Typ I erwogen werden muss. Im weiteren Verlauf tritt jedoch regelmäßig eine Hyperkaliurie mit unterschiedlich stark ausgeprägter hypokaliämischer Alkalose auf. Unbehandelt führt diese Erkrankung häufig zum Tode. Charakteristisch für das HPS/aBS ist eine Hyperkalziurie und es entwickelt sich zumeist schon innerhalb der ersten Lebenswochen eine Nephrokalzinose.

Polyurie und Salzverlust korrelieren mit einer massiv erhöhten renalen Ausscheidung von Prostaglandin E₂ (PGE₂) und dessen Hauptmetaboliten PGE-M. Häufig treten – vermutlich PGE₂ vermittelt – systemische Symptome wie Fieber, Erbrechen, sekretorische Diarrhoe und Osteopenie auf. In der Folge wird bei nicht adäquater Behandlung eine ausgeprägte Dystrophie und Wachstumsretardierung beobachtet.

Eine wahrscheinlich ganz neue Entität stellt die Koinzidenz einer sich pränatal manifestierenden hypokaliämischen Salzverlust-Tubulopathie mit Innenohrtaubheit dar, die bisher einmalig in einer großen Beduinen-Familie beschrieben worden ist (Landau et al. 1995).

3. Klassisches Bartter-Syndrom

Das klassische Bartter-Syndrom manifestiert sich typischerweise im Säuglings- oder frühen Kindesalter, wenngleich die Variabilität des Phänotyps sehr groß ist. Klinisch auffällig werden die Patienten häufig durch eine ausgeprägte Gedeihstörung oder durch akute Elektrolytentgleisungen, insbesondere Hypokaliämie und Hyponatriämie. Das Magnesium im Serum ist normal oder erniedrigt, eine Hyperkalziurie fehlt zumeist und eine Nephrokalzinose wird nur in Ausnahmefällen beobachtet. Die renale Prostaglandin-Ausscheidung ist in der Regel nur mäßig erhöht. Es gibt auch sehr milde Verläufe und in Einzelfällen wird die Diagnose zufällig (z.B. Routine-Elektrolytbestimmung) oder im Rahmen von Familienuntersuchungen gestellt. Klinisch wird die Diagnose zumeist dann in Erwägung gezogen, wenn die charakteristischen Befunde für das Gitelman-Syndrom (Hypomagnesiämie, Hypokalziurie) und das HPS/aBS (Polyhydramnion/Isostenurie/Nephrokalzinose) nicht erhoben werden können.

Diagnostische Kriterien

Allen drei Erkrankungen gemeinsam ist definitionsgemäß die hypokaliämische Alkalose mit Serum-Kaliumwerten zwischen 1,8 und 3,3 mmol/l und erhöhte Serum-Bikarbonatkonzentrationen in einem Bereich von 26 bis 33 mmol/l (BE +5 bis +15 mmol/l). Auf den primären Defekt im distalen Tubulus hinweisend ist der deutlich erhöhte renale Natrium- und Chloridverlust mit entsprechend hohen Exkretionsraten. Die Serumkonzentrationen von Natrium und Chlorid tendieren zu

niedrig-normalen Werten. Insbesondere in der Neonatalperiode können bei extrem hohem renalen Salzverlust auch deutlich erniedrigte Konzentrationen gemessen werden.

Ein empfindlicherer Parameter für das Ausmaß der Kochsalz-Verarmung sind die Plasmakonzentrationen von Renin und Aldosteron, die bei unbehandelten Patienten um das Mehrfache der oberen Norm erhöht sind. Der histologische Nachweis einer hypertrophierten Makula densa bringt heute kaum eine neue Erkenntnis für die Diagnose, da hierdurch lediglich der gesteigerte Kochsalzverlust des Organismus angezeigt wird. Demgegenüber hat die Bestimmung der renalen Exkretionsraten von PGE₂ und PGE-M direkte therapeutische Konsequenzen (siehe unten), obwohl die gesteigerte renale (PGE₂) und die systemische (PGE-M) Prostaglandinbildung nicht das primäre pathophysiologische Ereignis darstellen. Im besonderen Maße bestimmt PGE₂ das klinische Erscheinungsbild beim HPS/aBS. Die Mechanismen, die zu der gesteigerten PGE₂-Bildung führen, sind jedoch bisher nicht bekannt (Übersicht in Seyberth et al. 1998).

Die wesentlichen klinischen und laborchemischen Unterscheidungsmerkmale der einzelnen Erkrankungen sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Therapie und Prognose

Bei frühkindlicher Manifestation, vor allem in der Neonatalperiode, müssen ausreichend Flüssigkeit und Elektrolyte entsprechend den hohen renalen Exkretionsraten (bis zu 30 mmol/kg/Tag) substituiert werden. Die Kaliumsubstitution, am besten als Kaliumchlorid, wird bei dem neonatal auftretenden Salzverlust erst dann notwendig, wenn sich sekundär ein Hyperaldosteronismus mit der sich daraus entwickelnden hypokaliämischen Alkalose eingestellt hat (Konrad et al. 1999). Gerade in der Neugeborenenperiode ist eine engmaschige Ein- und Ausfuhrkontrolle notwendig, da es sehr rasch zu Imbalanzen im Wasser- und Elektrolythaushalt kommen kann. Bei extremer Volumenkontraktion besteht die Gefahr eines prärenalen Nierenversagens, eines Durstfiebers sowie zerebraler Krampfanfälle.

Beim Gitelman-Syndrom kann durch das Diuretikum Amilorid, das selektiv den Aldosteron-gesteuerten apikal gelegenen Natriumkanal (ENaC) hemmt, die negative Kaliumbilanz und die Hypokaliämie teilweise korrigiert werden. Ein größeres therapeutisches Problem stellt die Hypomagnesiämie dar, die zur Zeit durch kein therapeutisches Konzept befriedigend beeinflusst werden kann, obwohl sie für die klinische Symptomatik (Carbopedalspasmen, Tetanien, abdominelle und Gelenksbeschwerden) von größerer Bedeutung ist. Man kann lediglich versuchen, durch bis an die Toleranzgrenze gehende orale Magnesiumsubstitution dieses Defizit teilweise auszugleichen. Das Gitelman-Syndrom hat allgemein eine sehr gute Langzeitprognose, sofern es gelingt, die Hypomagnesiämie zu beseitigen.

Für das HPS/aBS aber auch für das klassische Bartter-Syndrom ergibt sich durch die obligatorisch gesteigerte renale und häufig auch systemische PGE₂-Synthese ein direkter therapeutischer Ansatz, da dieses Prostaglandin durch seine hemmende Wirkung auf den transepithelialen Elektrolyttransport in der aufsteigenden Henle-Schleife für eine zusätzliche Steigerung des renalen Salzverlustes verantwortlich ist. Durch den Einsatz von Cyclooxygenase-Inhibitoren (insbesondere Indometazin) reduziert sich der renale Verlust von Kochsalz, Kalzium und Wasser um etwa 50%. Außerdem sistieren unter dieser Therapie auch die systemischen Effekte des PGE₂ und es kommt zu einer raschen Gewichtszunahme. Diese guten therapeutischen Erfolge sind aber nur mit einer engmaschig kontrollierten Indometazin-Behandlung zu erreichen. Dies beinhaltet vor allem bei den Früh- und Neugeborenen eine regelmäßige Überwachung des Indometazin-Serumspiegels, der renalen Exkretion von PGE₂ und PGE-M sowie der Plasma-Reninaktivität.

Insgesamt kann man das Nutzen-Risiko-Verhältnis der Langzeitbehandlung mit Indometazin als sehr günstig betrachten, allerdings ist mit zunehmendem Alter der Patienten mit den üblichen Nebenwirkungen nicht-steroidaler Antiphlogistika zu rechnen. Unter

der Therapie ist darauf zu achten, dass eine ausreichende Kochsalz-, Kalium- und Wasserzufuhr sichergestellt ist. Dies trifft vor allem bei zusätzlichen extrarenalen Verlusten wie z.B. im Rahmen einer Diarrhoe oder bei gesteigerter Perspiratio zu.

Bezüglich der Langzeitprognose sprechen die wenigen verfügbaren Daten dafür, dass für das HPS/aBS bzw. das klassische Bartter-Syndrom eine frühstmögliche Diagnosestellung mit entsprechender Therapie entscheidend ist, insbesondere in Hinblick auf die Gedeihstörung. Neben der akuten Bedrohung durch Wassermangel und Elektrolytentgleisungen kann durch die Therapie eine anhaltende Hypokaliämie mit hyperreninämischem Hyperaldosteronismus vermieden werden.

Formale Genetik

Die hypokaliämischen Salzverlust-Tubulopathien folgen alle einem autosomal-rezessiven Vererbungsmuster. Für das Gitelman-Syndrom wurde auch eine autosomal-dominant vererbte Variante beschrieben (Bettinelli et al. 1995), allerdings konnte in weiteren Untersuchungen gezeigt werden, dass bei dieser Familie ein „pseudodominanter“ Erbgang vorlag (Mastroianni et al. 1996). Genaue Aussagen über die Inzidenz der einzelnen Erkrankungen liegen nicht vor, die Schätzungen schwanken zwischen 1:50.000 und 1:100.000.

Pathophysiologie

Die Pathophysiologie der hypokaliämischen Salzverlust-Tubulopathien wurde lange Zeit kontrovers diskutiert. Entscheidend war im Nachhinein die klinische Beobachtung, dass der Phänotyp des Gitelman-Syndroms einer dauerhaften Therapie mit einem Thiazid-Diuretikum ähnelt, während der HPS/aBS-Phänotyp an eine Therapie mit einem Schleifendiuretikum (z.B. Furosemid) erinnert. Dies waren Hinweise auf eine ursächliche Störung der NaCl-Reabsorption im distalen Konvolut bzw. in der aufsteigenden Henle-Schleife (= medullary thick ascending limb, mTAL) (Sutton et al. 1992, Köckerling et al. 1996, Colussi et al. 1997). Die molekularen Komponenten der NaCl-Reabsorption in bei-

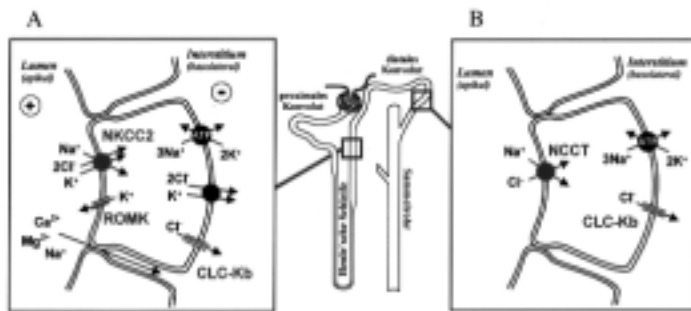


Abb 1 Transepitheliale Chlorid-Reabsorption im dicken Teil der aufsteigenden Henle-Schleife und im distalen Konvolut

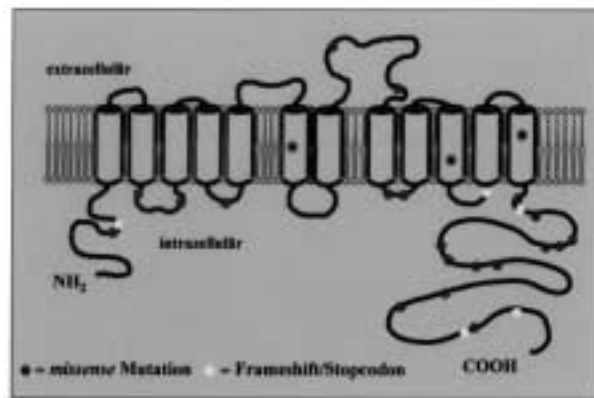


Abb 2 Topologie des NCCT und Verteilung der bisher publizierten Mutationen

den Tubulusabschnitten waren schon vor der Ära der Molekulargenetik aus Perfusionsstudien an dissezierten Nephronsegmenten und elektrophysiologischen Untersuchungen gut bekannt (Greger 1985, Stokes 1989) (Abb. 1a).

Im mTAL folgt der Natriumtransfer dabei einem Konzentrationsgradienten zwischen Lumen und Tubulusepithel. Durch die basolaterale NaK-ATPase wird die intrazelluläre Natriumkonzentration niedrig gehalten. Der Furosemid-sensible NaK₂Cl-Kotransporter NKCC2 kann dadurch passiv Natriumchlorid im Symport mit Kalium über die apikale Membran in das Zytosol transferieren (Abb. 1a). Da die Kaliumkonzentration im Tubuluslumen wesentlich geringer ist als die Natriumkonzentration, ist zur Aufrechterhaltung des Symports eine permanente Rückführung von Kaliumionen aus der Tubulusepithelzelle in das Lumen notwendig. Dieses Kalium-Recycling geschieht über den apikalen Kalium-Kanal ROMK (renal outer medullary K⁺ channel). Da positiv geladene Kalium-Ionen solitär sezerniert werden, bildet sich ein elektrochemischer Gradient über dem Tubulusepithel aus, der wiederum die Triebkraft für die parazelluläre Absorption der divalenten Kationen Kalzium und Magnesium darstellt. Auch Natrium wird über diesen Weg zusätzlich parazellulär rückresorbiert. Der Chloridflux ins Interstitium geschieht entweder über den basolateralen Chlorid-Kanal oder den KCl-Kotransporter. Welcher Weg quantitativ überwiegt ist bisher nicht geklärt.

Im distalen Konvolut folgt die Natriumreabsorption ebenfalls einem Konzentrationsgefälle, das durch die basolaterale NaK-ATPase generiert wird (Abb. 1b). Die Natriumpassage erfolgt hier elektroneutral über den Thiazid-sensiblen NaCl-Kotransporter NCCT. Basolateral verlassen die Chlorid-Ionen die Epithelzelle wieder durch einen Chlorid-Kanal.

Molekulare Genetik

Diese konkreten Vorstellungen zur Pathophysiologie führten dazu, dass die Aufklärung der molekularen Defekte der hypokaliämischen Salzverlust-Tubulopathien mit einer Ausnahme über einen Kandidatengen-Ansatz erfolgte. In Übereinstimmung mit den pathophysiologischen Überlegungen konnte gezeigt werden, dass das Gitelman-Syndrom durch Mutationen des Thiazid-sensiblen NaCl-Kotransporters bedingt ist (Simon et al. 1996a). Das hierfür kodierende Gen (SLC12A3) ist auf Chromosom 16q13 lokalisiert und besteht aus 26 Exonen. Das Protein (NCCT) besitzt 1021 Aminosäuren mit zwölf putativen transmembranären Domänen und einem langen zytosolischen C-Terminus (Abb. 2). Diese Struktur ist charakteristisch für die Familie der elektroneutralen Kationen-Chlorid-Kotransporter. Der hNCCT wird in der Niere exklusiv im distalen Konvolut des Nephrons exprimiert.

Bei Patienten mit Gitelman-Syndrom sind heute über 120 verschiedene Punktmutationen im SLC12A3 Gen bekannt (Simon et al. 1996a, Maistroianni et al. 1996, Lemmink et al. 1998, Simon et al. 1998a). In der Mehrzahl

handelt es sich um Punktmutationen, seltener sind Deletionen, Insertionen oder splice-site-Mutationen. Eine bisher singuläre Beobachtung blieb, dass die Mutationen in dem zytosomatischen C-Terminus akkumulieren (Lemmink et al. 1998). Kürzlich ist es gelungen, einzelne NCCT-Mutationen heterolog zu exprimieren und den individuellen Mechanismus des Funktionsverlustes aufzuklären (Kunchaparty et al. 1999).

Für das HPS/aBS konnten zunächst Mutationen im Furosemid-sensiblen NaK₂Cl-Kotransporter des mTAL (NKCC2) charakterisiert werden (Simon et al. 1996b). Wie der NCCT gehört der NKCC2 zur Familie der elektroneutralen Kationen-Chlorid-Kotransporter. Das den hNKCC2 kodierende SLC12A1-Gen liegt auf dem langen Arm des Chromosoms 15 und schließt 26 Exone ein. Das hNKCC2-Protein besteht aus 1099 Aminosäuren und hat, wie der NCCT, 12 Transmembrandomänen (Abb. 3).

Auch in dem SLC12A1-Gen dominieren die Punktmutationen (Simon et al. 1996b, Vargas-Poussou et al. 1998). Im Gegensatz zum NCCT sind bisher keine Punktmutationen im zytosomatischen C-Terminus beschrieben, sondern lediglich splice-site- oder trunkierende Mutationen. Dies ist erstaunlich, da beide Proteine zur selben Transporter-Familie gehören und damit wesentliche strukturelle und wahrscheinlich auch funktionelle Merkmale teilen. Die funktionelle Charakterisierung von NKCC2-Mutationen

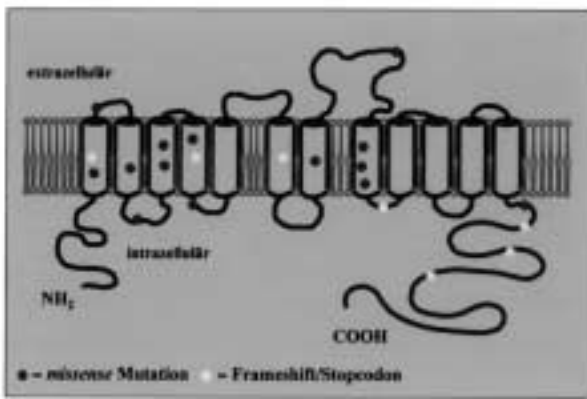


Abb 3 Strukturmodell des NKCC2 mit Lokalisation sämtlicher bisher identifizierter Mutationen.

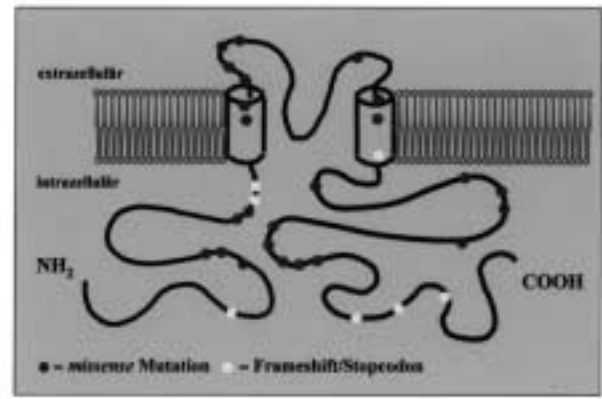


Abb 4 Modell einer ROMK-Untereinheit. Das Segment zwischen den beiden Transmembrandomänen ragt in die Pore hinein und formt dort den Selektivitätsfilter für Kalium-Ionen.

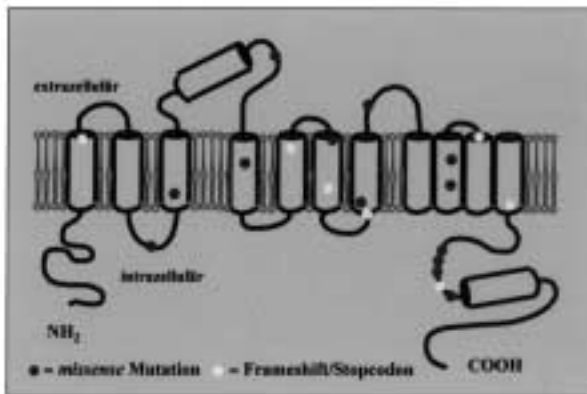


Abb 5 Die Topologie des CLC-Kb ist noch Gegenstand der Diskussion.

Wahrscheinlich sind von den 13 hydrophoben Domänen nur 11 in der Membran integriert. Domäne 4 liegt extrazellulär, und die letzte C-terminale Domäne im Cytosol. Möglicherweise bilden auch die Domänen 9-12 einen zusammenhängenden hydrophoben Komplex, der die Membran gar nicht verlässt. Neben den Punktmutationen sind Deletionen des gesamten CLCNKB Gens beschrieben worden.

im Expressionssystem steht bisher noch aus.

Es zeigte sich im weiteren Verlauf, dass das HPS/aBS eine genetisch heterogene Erkrankung ist, nachdem bei etwa der Hälfte der informativen Familien eine Kopplung an den SLC12-A1-Lokus auf Chromosom 15 ausgeschlossen werden konnte. Der nächste aussichtsreiche Kandidat war der ebenfalls in der apikalen Membran des mTAL lokalisierte Kaliumkanal ROMK, der für die Funktion des NKCC2 essentiell ist. ROMK gehört in die Familie der einwärts gleichrichtenden Kalium-Kanäle (inwardly rectifying K⁺ channels, K_{ir}). Das den humanen ROMK kodierende KCNJ1-Gen liegt auf Chromosom 11q24 und besteht aus fünf Exonen. Nur die Exone 2, 4 und 5 enthalten direkt Informationen für die Proteinsequenz. Die Funktion der Exone 1 und 3 ist nicht bekannt. Durch alternatives Splicing der Exone entstehen fünf KCNJ1-Transkripte, die aufgrund des Einschusses der nichtkodierenden Exone allerdings nur für drei verschiedene Protein-Isoformen kodieren, ROMK 1-3. Die Isoenzyme unterscheiden sich lediglich in der Länge und Aminosäurefolge des N-Terminus (372-391 Aminosäuren).

Die bei HPS/aBS-Patienten gefundenen ROMK-Mutationen (Abb. 4) betreffen fast ausschließlich das Exon 5, das den größten Teil der Kanaluntereinheit aller drei ROMK Isoformen kodiert (Simon et al. 1996c, Károlyi et al. 1997, Vollmer et al. 1998). Für verschiedene Mutationen gelang es, den Funktionsverlust in Expressionssystemen nachzuweisen und auch einige molekulare Mechanismen, die dem Funktionsverlust zugrunde liegen, zu verstehen (Derst et al. 1998, Schwalbe et al. 1998, Schulte et al. 1999).

Einzigartig ist bisher die Beschreibung einer homozygoten Deletion der KCNJ1 Exone 1 und 2 in einer konsanguinen indischen Familie (Feldmann et al. 1998). Der daraus resultierende Verlust von Transkriptions- und Translationsmotiven ist der wahrscheinliche pathogenetische Auslöser.

Das klassische Bartter-Syndrom wird verursacht durch Mutationen in dem nierenspezifischen Chloridkanal CLC-Kb, der zur Familie der Spannungsabhängigen Chlorid-Kanäle gehört. Typisches strukturelles Merkmal dieser Proteinfamilie sind 13 hydrophobe Domänen. Das erste Mitglied dieser Familie war der CIC-O, der aus dem Torpedofisch kloniert wurde (Jentsch

et al. 1990). Bis heute sind beim Menschen neun Spannungs-abhängige Chlorid-Kanäle bekannt, unter ihnen die gewebsspezifischen CIC-1 und CIC-5, deren genetische Veränderungen zur Myotonie vom Becker-Typ oder Thomsen-Typ (Koch et al. 1992, Steinmeyer et al. 1994) bzw. zur X-chromosomal vererbten Dent's disease (Lloyd et al. 1996) führen.

Das den CIC-Kb kodierende CLCNKB-Gen umfasst 19 Exone und liegt auf Chromosom 1p36. Annähernd elf Kilobasen in 5'-Richtung entfernt liegt das CLCNKA-Gen, das für einen zweiten Nieren-spezifischen Chlorid-Kanal, CIC-Ka, kodiert. Dieser Chlorid-Kanal weist in der Proteinsequenz 90 % Homologie zu dem CIC-Kb auf. Das CIC-Kb-Protein besteht aus 687 Aminosäuren. N- und C-Terminus sind ins Zellinnere orientiert. Von den 13 hydrophoben Domänen sind nur 11 in der Membran integriert, die D4-Domäne liegt extrazellulär, die D13-Domäne im Cytoplasma (Abb. 5).

Im CLCNKB-Gen sind bis heute ca. 15 Punktmutationen beschrieben, die sich scheinbar zufällig über das Kanalprotein verteilen (Simon et al. 1997, Konrad et al. 2000). Darüber hinaus sind splice-site- und frameshift-Muta-

Tab 2 Molekulare Ursachen der hypokaliämischen Salzverlust-Tubulopathien

Phänotyp	Synonym	Protein	Gen	Lokus
Gitelman-Syndrom	Hypokalziurisches Bartter-Syndrom Familiäre hypokaliämische Hypomagnesiämie	NCCT	SLC12A3	16q13
Hyperprostaglandin-E-Syndrom	antenatales Bartter-Syndrom hyperkalziurisches Bartter-Syndrom	NKCC2 ROMK	SLC12A1 KCNJ1	15q15-21 11q24
Antenatales Bartter-Syndrom mit Taubheit		unbekannt	unbekannt	1p31
Klassisches Bartter-Syndrom	Bartter-Syndrom idiopathische hyperkaliurische Hypokaliämie	CIC-Kb	CLCNKB	1p36

tionen bekannt. Bemerkenswert ist eine hohe Anzahl an Deletionen des kompletten CLCNKB-Gens. Ursache ist die enge Nachbarschaft dieses Gens zu dem CLCNKA-Gen, die zu inhomologen Rekombinationen prädisponiert.

Erst kürzlich ist bei sieben Mitgliedern einer großen Beduinen-Familie die Koinkidenz von einer Salzverlust-Tubulopathie und Innenohrtaubheit beschrieben worden (Landau et al. 1995). Da die Erkrankung mit keinem der oben genannten Genorte kosegregierte, ist in dieser Familie ein Genom-weites Screening durchgeführt worden. Hier zeigte sich eine Koppelung der Erkrankung an Chromosom 1p31 (Brennan et al. 1998). Ein pathogenetisch relevantes Gen ist bisher nicht identifiziert worden. Bis dahin bleibt ebenfalls offen, ob es sich bei der gemeinsamen Schädigung von Niere und Innenohr um den pleiotropen Effekt einer Genmutation handelt oder ob zwei (oder mehr) eng benachbarte Gene verändert bzw. deletiert sind, von denen eines für die renale Tubulusfunktion und das andere für den Innenohrapparat essentiell ist.

Da die Analysen der Haplotypen in großen Patienten-Populationen mit angeborenen hypokaliämischen Salzverlust-Tubulopathien kaum noch informative Familien detektieren, bei denen die Erkrankung nicht mit einem der heute bekannten Genorte kosegregiert, kann mit einiger Sicherheit davon ausgegangen werden, dass mit Ausnahme des Proteins auf 1p31 alle für die hypokaliämischen Salzverlust-

Tubulopathien relevanten Kandidaten identifiziert worden sind (siehe Tab. 2).

Molekulargenetische Diagnostik

Nachdem die molekulare Genetik der hypokaliämischen Salzverlust-Tubulopathien heute weitgehend aufgeklärt ist, kann theoretisch eine molekulargenetische Diagnostik für die Patienten angeboten werden (Ausnahme: antenatales Bartter-Syndrom mit Taubheit). Der hierfür nötige Aufwand ist allerdings derzeit noch sehr hoch, zumal sich der Phänotyp nicht immer eindeutig einem Krankheitsbild zuordnen lässt, was bedeutet, dass häufig mehrere Gene in Betracht kommen. Aus klinischer Sicht dient die Mutationsanalyse häufig nur der Bestätigung der Diagnose. Hier ist im Einzelfall abzuwägen, ob man eine entsprechende Diagnostik anstreben möchte.

Daneben gibt es aber auch Konstellationen, bei denen das Ergebnis der Mutationsanalyse unmittelbar therapeutische Konsequenzen haben kann. Wie oben bereits erwähnt, kann sich das HPS/aBS in der Neonatalperiode ähnlich wie ein Pseudohypoaldosteronismus Typ I präsentieren, d.h. mit renalem Salzverlust, einer metabolischen Azidose und einer Hyperkaliämie. Auch ein Polyhydramnion ist beim PHA Typ I beschrieben. Dieser Phänotyp schlägt mit einer Latenzzeit von bis zu einigen Monaten in den typischen HPS/aBS-Phänotyp um. Diese Latenzzeit kann zu einer Verzögerung der Diagnose führen und damit zu einer ausgeprägten Gedeihstörung sowie einer Nephrokalzinose. Dieser für das HPS/aBS atypische Phänotyp

ist bisher nur bei Patienten mit ROMK-Mutationen beschrieben (Simon et al. 1998b), d.h. eine rasche Mutationsanalyse binnen weniger Wochen ist aufgrund der geringen Größe des KCNJ1-Gens denkbar.

Auch aus einer pränatalen Diagnosestellung ergeben sich unter Umständen therapeutische Konsequenzen. So konnte bei einem Feten mit nachgewiesenem ROMK-Defekt gezeigt werden, dass durch eine intrauterine Indometazintherapie die Progression eines Polyhydramnions und damit die Frühgeburtlichkeit verhindert werden konnte (Konrad et al. 1999). Die klinischen Erfahrungen hierzu sind allerdings noch spärlich und eine generelle Empfehlung für eine derartiges Vorgehen ergibt sich aus diesem Einzelfallbericht sicher nicht, vor allem wegen der potentiellen unerwünschten Indometazinwirkungen (vorzeitiger Verschluss des Ductus arteriosus u.a.).

Darüber hinaus ist auch die Untersuchung der Familien von Indexpatienten sinnvoll, insbesondere beim klassischen Bartter-Syndrom, um ebenfalls betroffene Geschwister frühzeitig zu identifizieren. Hiermit könnten potentiell gefährliche Elektrolytverschiebungen vermieden werden.

Neben den klinischen Konsequenzen einer molekulargenetischen Untersuchung besteht auch ein wissenschaftliches Interesse und langfristig könnten sich, ähnlich wie bei anderen Erkrankungen, auch therapeutische Konsequenzen ergeben.

Denn ausgehend von der Aufklärung der molekularen Pathophysiologie, d.h. den Mechanismen, die dem Funktionsverlust der individuellen Mutationen zugrunde liegen, wird auf pharmakologischem Wege versucht, die erloschene Funktion des defekten Proteins zurückzugewinnen. Bekanntestes Beispiel hierfür ist die CFTR-Mutation ³F508, die eine gestörte Faltung des Proteins im Golgi-Apparat zur Folge hat. Hier konnte gezeigt werden, dass Butyrate eine korrekte Prozessierung fördern, und erste klinische Untersuchungen ergaben, dass die therapeutische Anwendung von Phenylbutyrat zu zuvor nicht ableitbaren Chloridströmen im Nasenschleimhautepithel von Mukoviszidose (³F508)-Patienten führte (Übersicht in Zeitlin 1999). Dass diese Ergebnisse grundsätzlich auch auf andere Erkrankungen übertragbar sind, konnte anhand einer Aquaporin-2-Mutation beim renalen Diabetes insipidus gezeigt werden (Tamarappoo und Verkman 1998).

Genotyp-Phänotyp-Korrelation

Voraussetzung einer soliden Genotyp-Phänotyp-Korrelation ist neben einer repräsentativen Größe der Patientenkohorte eine sorgfältige klinische Evaluierung der Patienten. Angesichts der relativ niedrigen Inzidenz der angeborenen hypokaliämischen Salzverlust-Tubulopathien konzentriert sich die molekulare Diagnostik auf wenige Labors, wo die genetischen Daten generiert werden. In der Regel fehlt allerdings der direkte Patientenkontakt und damit die Möglichkeit, die genotypisierten Patienten nach einem standardisierten Protokoll klinisch zu charakterisieren. Häufig nutzt man in diesem Fall die Möglichkeit, retrospektiv mit Hilfe eines Fragebogens die wichtigsten Kenndaten der Patienten von den auswärtigen Kliniken abzufragen. Ein standardisiertes Vorgehen ist dadurch aber kaum zu erreichen, da das diagnostische und therapeutische Procedere von Klinik zu Klinik erheblich variiert. Auch die im Folgenden gezeigte Genotyp-Phänotyp-Korrelation basiert auf Daten, die in mehreren klinischen Zentren erhoben wurden. Eingeschlossen sind nur solche Patienten, bei denen entweder eine ho-

mozygote oder zwei heterozygote Mutationen bekannt sind.

Insgesamt gehen in diese Betrachtung 98 genotypisierte Patienten ein. 24 Patienten weisen Mutationen im NCCT auf, 14 im NKCC2, 33 im ROMK und 27 im CIC-Kb. Sämtliche Patienten mit NCCT-Mutationen fielen durch die für das Gitelman-Syndrom pathognomonische Koinzidenz von Hypomagnesiämie und Hypokalziurie auf.

Patienten mit NKCC2- oder ROMK-Mutationen waren beinahe ausnahmslos gekennzeichnet durch die Trias Polyhydramnion, Iso-/Hypostenurie und Nephrokalzinose. Molekulare Veränderungen des NKCC2 oder ROMK manifestieren sich homogen als HPS/aBS.

Patienten mit Mutationen in dem CIC-Kb zeichnen sich durch ein variables klinisches Bild aus. Insgesamt entsprechen die Symptome aber am ehesten Bartters Originalbeschreibung mit Manifestation im Säuglings- und frühen Kleinkindalter und isolierter hypokaliämischer Alkalose. Iso-/Hypostenurie und Hyperkalziurie mit konsekutiver Nephrokalzinose bestehen typischerweise nicht. Drei der 27 Patienten hatten allerdings einen dem Gitelman-Syndrom ähnlichen Phänotyp, lediglich ein Patient entwickelte die klinischen Charakteristika des HPS/aBS. Die Ursache für das Spektrum der durch CLCNKB-Mutationen ausgelösten phänotypischen Bilder mag in der interindividuell unterschiedlichen Fähigkeit liegen, Kompensationsmechanismen für den Chlorid-Auswärtsstrom über die basolaterale Membran der Tubulusepithelien auszubilden.

Literatur

Bartter FC, Pronove P, Gill JR et al. (1962) Hyperplasia of the juxtaglomerular complex with hyperaldosteronism and hypokalemic alkalosis – A new syndrome. *Am J Med* 33: 811-28

Bettinelli A, Bianchetti MG, Borella P et al. (1995) Genetic heterogeneity in tubular hypomagnesiemia-hypokalemia with hypocalciuria (Gitelman's syndrome). *Kidney Int* 47: 547-541

Brennan TM, Landau D, Shalev H et al. (1998) Linkage of Infantile Bartter Syndrome with Sen-

sorineural deafness to Chromosome 1p. *Am J Hum Genet* 62: 355-361

Colussi G, Rombola G, Brunati C, De Ferrari ME (1997) Abnormal reabsorption of Na⁺/Cl⁻ by the thiazide-inhibitable transporter of the distal convoluted tubule in Gitelman's syndrome. *Am J Nephrol* 17: 103-111

Derst C., Wischmeyer E, Preisig-Müller R et al. (1998) A hyperprostaglandin E syndrome mutation in K_{ir}1.1 (Renal outer medullary potassium) channels reveals a crucial residue for channel function in K_{ir}1.3 channels. *J Biol Chem* 273: 23884-23891

Deschenes G, Burguet A, Guyot C et al. (1993) Forme anténatale du syndrome de Bartter. *Ann Pédiatr (Paris)* 40 (2): 95-101

Fanconi A, Schachenmann G, Nüssli R, Prader A (1971) Chronic Hypokalaemia with growth retardation, normotensive hyperrenin-hyperaldosteronism („Bartter's syndrome“), and hypercalciuria. *Helv Paediatr Acta*, 144-63

Feldmann D, Alessandri JL, Deschenes G (1998) Large deletion of the 5' end of the ROMK1 gene causes antenatal Bartter syndrome. *J Am Soc Nephrol* 9: 2357-2359

Gitelman HJ, Graham JB, Welt LG (1966) A new familial disorder characterized by hypokalemia and hypomagnesemia. *Trans Assoc Am Physicians* 79: 221-3

Greger R (1985) Ion transport mechanisms in thick ascending limb of Henle's loop of mammalian nephron. *Physiol Rev* 65: 760-797

Jentsch TJ, Steinmeyer K, Schwarz G (1990) Primary structure of Torpedo marmorata chloride channel isolated by expression cloning in *Xenopus oocytes*. *Nature* 348: 510-514

Károlyi L, Konrad M, Köckerling A et al. (1997) Mutations in the gene encoding the inwardly-rectifying renal potassium channel, ROMK, cause the antenatal variant of Bartter syndrome: evidence for genetic heterogeneity. *Hum Mol Genet* 6: 17-26

Koch MC, Steinmeyer K, Lorenz C et al. (1992) The skeletal muscle chloride channel in dominant and recessive human myotonia. *Science* 257: 797-800

Köckerling A, Reinalter SC, Seyberth HW (1996) Impaired response to furosemide in hyperprostaglandin E syndrome: Evidence for a tubular defect in the Loop of Henle. *J Pediatr* 129: 519-528

Konrad M, Leonhardt A, Hensen P et al. (1999) Prenatal and postnatal management of Hyperprostaglandin E syndrome after genetic diagnosis from amniocytes. *Pediatr* 103: 678-83

Konrad M, Vollmer M, Lemmink H et al. (2000) Mutations in the chloride channel gene, CLCNKB, cause Bartter syndrome. *J Am Soc Nephrol* (in press)

Kunchaparty S, Palsco M, Berkman J et al. (1999) Defective processing and expression of thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter as a cause of Gitelman's syndrome. *Am J Physiol* 277: F643-649

Landau D, Shalev H, Ohaly M, Carmi R (1995) Infantile variant of Bartter syndrome and sensorineural deafness: A new autosomal recessive disorder. *Am J Med Genet* 59: 454-459

Lemmink HH, Knoers N, Karolyi L et al. (1998) Novel mutations in the thiazide-sensitive NaCl cotransporter gene in patients with Gitelman's syndrome with predominant localization to the C-terminal domain. *Kidney Int* 54: 720-730.

Lloyd SE, Pearce SHS, Fisher et al. (1996) A common molecular basis for three inherited kidney stone diseases. *Nature* 379: 445-449

Mastroianni N, Bettinelli A, Bianchetti M et al. (1996) Novel molecular variants of the Na-Cl cotransporter gene are responsible for Gitelman's syndrome. *Am J Hum Genet* 59: 1019-1026

Rosenbaum P, Hughes M (1957) Persistent, probably congenital, hypokalemic metabolic alkalosis with hyaline degeneration of renal tubules and normal urinary aldosterone. *Am J Dis Child* 94: 560

Rudin A, Sjögren B, Aurell M (1984) Low urinary calcium excretion in Bartter's syndrome. *NEJM* 310: 1190

Schulte U, Hahn H, Konrad M et al. (1999) PH-gating of ROMK ($K_{ir}1.1$) channels: Control by an Arg-Lys-Arg-triade disrupted in antenatal Bartter syndrome. *Proc Natl Acad Sci* 96: 15298-15303

Schwalbe R, Bianchi L, Accili EA, Brown A (1998) Functional consequences of ROMK mutants linked to antenatal Bartter's syndrome and implications for treatment. *Hum Mol Genet*, 7: 975-980

Seyberth HW, Rascher W, Schweer H et al. (1985) Congenital hypokalemia with hypercalciuria in preterm infants: A hyperprostaglandinuric tubular syndrome different from Bartter syndrome. *J Pediatr* 107(5): 694-701

Seyberth HW, Soergel M, Köckerling A (1998) Hypokalemic tubular disorders: The hyperprostaglandin E syndrome and the Bartter-Gitelman syndrome. In: Davison AM, Cameron JS, Grünfeld J-P et al. (Hrsg.) *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*. Oxford medical publications 1998, S 1085-1094

Simon DB, Nelson-Williams C, Bia MJ et al. (1996a) Gitelman's variant of Bartter syndrome, inherited hypokalemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter. *Nat Genet* 12: 24-30

Simon DB, Karet FE, Hamdan JM et al. (1996b) Bartter's syndrome, hypokalemic alkalosis with hypercalciuria, is caused by mutations in the Na-K-2Cl cotransporter NKCC2. *Nat Genet* 13:183-188

Simon DB, Karet FE, Rodriguez-Soriano J et al. (1996c) Genetic heterogeneity of Bartter's syndrome revealed by mutations in the K^+ channel, ROMK. *Nat Genet* 14: 152-156

Simon DB, Bindra RS, Mansfield TA et al. (1997) Mutations in the chloride channel gene, CLCNKB, cause Bartter's syndrome type III. *Nat Genet* 17: 171-178

Simon DB, Cruz DN, Lu Y, Lifton RP (1998a) Genotype-phenotype correlation of the NCCT and Gitelman's syndrome. *J Am Soc Nephrol* 9: A0573 [Abstract]

Simon DB, Cruz DN, Hamdan J et al. (1998b) A unique phenotype in Type II Bartter's syndrome reveals a K^+ secretory defect. *J Am Soc Nephrol* 9: A110 [Abstract]

Steinmeyer KC, Pusch LM, Koch MC, Jentsch TJ (1994) Multimeric structure of ClC-1 chloride channel revealed by mutations in dominant myotonia congenita (Thomsen). *EMBO J* 13: 737-743

Stokes JB (1989) Electroneutral NaCl transport in the distal tubule. *Kidney Int* 36: 427-433

Sutton RAL, Mavichak V, Halabe A, Wilkins GE (1992) Bartter's syndrome: evidence suggesting a distal tubular defect in a hypocalciuric variant of the syndrome. *Miner-Electr-Metab* 18(1): 43-51

Tamarappoo BK, Verkman AS (1998) Defective aquaporin 2 trafficking in nephrogenic diabetes insipidus and correction by chemical chaperones. *J Clin Invest* 101: 2257-2267

Vargas-Poussou R, Feldmann D, Vollmer M et al. (1998). Novel molecular variants of the Na-K-2Cl cotransporter gene are responsible for antenatal Bartter syndrome. *Am J Hum Genet* 62: 1332-1340

Vollmer M, Koehrer M, Topaloglu R et al. (1998) Two novel mutations of the gene for $K_{ir} 1.1$ (ROMK) in neonatal Bartter syndrome. *Pediatr Nephrol* 12: 69-71

Zeitlin PL (1999) Novel pharmacologic therapies for cystic fibrosis. *J Clin Invest* 103: 447-452

Korrespondenzadresse:

Dr. Martin Konrad
Universitäts-Kinderklinik Marburg
Deutschausstr. 12
35033 Marburg
Tel. 06421-2862650
Fax 06421-2865724
konradm@mail.uni-marburg.de



The New Genetics

Montag, 7. August 2000
Hannover Kongress Zentrum
während der Weltausstellung EXPO
2000

9.00–10.30 Uhr

Jörg Schmidtke

Welcome address on behalf of the
organizers

Jens Weissenbach

The Human Genome Project:
Technology

Felix Mitelman

The Genetics of Cancer

11.00–12.30 Uhr

Mohsen A.A. El-Hazmi

Complex Hereditary diseases

Jonathan K.C. Knowles

Science and the Future of Medicine:
Lessons from Genetics

Bob Williamson

Gene Therapy

14.00–15.30 Uhr

Ishwar C. Verma

Genetic Counseling and Predictive
Genetics

Philip A. Venter

Community Genetics Services
Development in the Rural and under
developed Communities

Victor B. Penschazadeh

Population Screening and Consumer
Empowerment

16.00–17.30

Forum: Investing in Genes