

doi:10.3969/j.issn.1000-3606.2016.12.003

呋塞米/氢氯噻嗪负荷试验在儿童 Bartter 综合征和 Gitelman 综合征鉴别诊断中的应用

张 军 陈秋莉 李燕虹 杜敏联 马华梅 陈红珊 郭 松
中山大学附属第一医院儿科 (广东广州 510080)

摘要: **目的** 探讨呋塞米/氢氯噻嗪负荷试验对 Bartter 综合征和 Gitelman 综合征临床分型和选择目标基因检查的意义。**方法** 回顾性分析 2012 年至 2014 年 5 例临床诊断为 Bartter 综合征和 Gitelman 综合征患儿的临床表现、生化指标、呋塞米/氢氯噻嗪负荷试验和基因检测结果。**结果** 5 例患儿均表现为低钾血症、代谢性碱中毒,基础肾素、血管紧张素 II、醛固酮升高,血压正常。大部分患儿有多饮、多尿,并伴有不同程度的生长迟缓。5 例患儿基因诊断均与临床上根据呋塞米/氢氯噻嗪负荷试验作出的诊断吻合。**结论** 呋塞米/氢氯噻嗪负荷试验,能较好地将 Bartter 综合征和 Gitelman 综合征相鉴别,进行初步分型,并指导选择有针对性的目标基因检测。

关键词: Bartter 综合征; Gitelman 综合征; 呋塞米/氢氯噻嗪负荷试验; 基因检测

Utilization of furosemide/hydrochlorothiazide load test in differential diagnosis of Bartter syndrome from Gitelman syndrome in children ZHANG Jun, CHEN Qiuli, LI Yanhong, DU Minlian, MA Huamei, CHEN Hongshan, GUO Song (Department of Pediatrics, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To explore the application of furosemide/hydrochlorothiazide load test in clinical classification of Bartter syndrome and Gitelman syndrome and the significance of selecting target genes. **Method** The clinical features, biomarkers, the furosemide/hydrochlorothiazide load test, and gene detection in 5 patients with Bartter syndrome and Gitelman syndrome were retrospectively analyzed during 2012 to 2014. **Results** All of those 5 patients were manifested low potassium and metabolic acidosis; basis of renin, angiotensin II, and aldosterone were elevated. The blood pressures were normal. Most of the patients suffered from polydipsia, diuresis, and different degrees of growth retardation. The gene analysis of these 5 patients made the same diagnoses as furosemide/hydrochlorothiazide load test did. **Conclusions** Furosemide/hydrochlorothiazide load test can make a differentiation of Bartter syndrome from Gitelman syndrome and thus it can guide the selection of targeted gene detection.

Key words: Bartter syndrome; Gitelman syndrome; furosemide/hydrochlorothiazide load test; gene detection

Bartter 综合征 (Bartter syndrome, BS) 和 Gitelman 综合征 (Gitelman syndrome, GS) 均为常染色体隐性遗传性肾小管离子转运缺陷性疾病,两者的临床特征均为血压正常的低钾性代谢性碱中毒^[1]。BS 和 GS 的临床表现有很多相似之处,然而治疗和预后却有所不同,BS 可予以环氧化酶抑制剂,抑制前列腺素的合成,而 GS 则无效;同时相对于 BS 而言,GS 的预后较好,患儿体格发育和智力发育均正常^[2]。经典 BS 有高钙尿症,GS 有低镁血症,但在疾病的早期阶段,这些表现可能还未显现,或因临床表现的交叉而难以鉴别。现可行基因检测来确诊 BS 和 GS,但是 BS 和 GS 的大部分致病基因庞大且没有热点突变,同时基因检测价格昂贵、耗时较长,开展的不多^[3]。近年研究发现,两者存在不

同的遗传学基础,BS 为肾小管的髓攀升支粗段的离子通道缺陷,其引起的生化紊乱类似于应用袢利尿剂(如呋塞米)后改变^[4];GS 由编码噻嗪类利尿剂敏感的部位位于远曲小管上的钠氯共同转运体的 *SLC12A3* 基因突变所致,其生化紊乱类似于应用噻嗪类利尿剂后的改变^[4]。因此,按两种疾病离子通道对药物敏感性的不同,应用呋塞米/氢氯噻嗪负荷试验可有助于临床鉴别,以指导选择目的基因的检测和疾病的治疗^[5]。呋塞米负荷试验前、后氯排泄分数的最大差值 (Δ fractional excretion of chloride, Δ FECl) $> 2.3\%$ 和/或氢氯噻嗪负荷试验中 Δ FECl $< 2.3\%$,则提示为 GS;若呋塞米负荷试验中 Δ FECl $< 2.3\%$ 和/或氢氯噻嗪负荷试验中 Δ FECl $> 2.3\%$,则提示为 BS^[6]。

1 临床资料

2012年至2014年在中山大学附属第一医院儿科内分泌专科诊治的BS和GS共5例,最终均经基因检测确诊,其中男1例,女4例。5例患儿分别来自5个家系,均无家族史。初诊年龄在1~16岁,中位年龄2.46岁。发病到就诊时间在11个月~12年不等,中位时间为2年。患儿血压均正常。5例患儿均有多饮、多尿,以及不同程度的生长迟缓(表1)。其中3例患儿以生后频繁呕吐起病,1例因双下肢乏力起病,1例因体检时发现低钾血症就诊。其中1例有羊水过多病史,曾行羊水减量术4次,其母亲前4次妊娠均因羊水过多而自发流产。1例合并有完全性生长激素缺乏症,使用生长激素治疗10年,国外文献中也有类似病例^[7,8]。

5例患儿均有不同程度的低钾血症、代谢性碱中毒;基础肾素、血管紧张素Ⅱ、醛固酮均升高。5例患儿均行呋塞米/氢氯噻嗪负荷试验^[3,5,9]。试验前无饮食限制,收集试验当日的尿量,查空腹血电解质、肌酐水平。如果有用药的患儿,均经过至少7 d的洗脱期,才行电解质检查和呋塞米/氢氯噻嗪负荷试验。患儿如口服氯化钾或镁制剂,则维持到呋塞米/氢氯噻嗪负荷试验前1日。呋塞米/氢氯噻嗪负荷试验流程:行负荷试验前一晚禁食,次晨补水(口服10 mL/kg)至尿流速最大后,留尿1次,相隔30 min,后再留尿1次,行尿生化检查作为各电解质的基础排泄率。然后给予呋塞米(0.7 mg·kg⁻¹)/氢氯噻嗪(1 mg·kg⁻¹)口服,之后再每隔30 min留尿1次,共6次,每个点行尿生化检查,用以计算每个点各电解质的排泄率。在60 min和240 min时同时抽血,查Na⁺、K⁺、Cl⁻、肌酐,并计算各电解质的排泄率。计算负荷试验前、后的氯排泄分数最大差值(ΔFECl=MaxFECl-两次基础FECl的平均值)。呋塞米负荷试验中,例1、2、5的ΔFECl均>2.3%,提示为GS,而例3、4的ΔFECl均<2.3%,提示为BS,同时例3、4行氢氯噻嗪负荷试验,其ΔFECl均>2.3%,亦提示为BS。见表1。

经知情同意后,均对5例患儿提取外周血基因

组DNA,利用下一代测序技术(NGS)进行基因检测,包括检测BS的Types I、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ,及GS相关共6个基因(*CLCNKA*、*CLCNKB*、*SLC12A1*、*BSND*、*KCNJ1*、*SLC12A3*)。对其进行全外显子高通量测序,检测到阳性结果后再用Sanger测序验证,并对受检者父母的相应基因位点进行检测。例1检测示*SLC12A3*基因的1个纯合突变 c.2532 G>A, p.(Trp844*)。例2检测示*CLCNKB*基因 c.498+1 G>A, 杂合; c.910 C>T, p.(Arg304*), 杂合。例5检测示*CLCNKB*基因c.735 C>A, p.(Cys245*), 杂合; c.1756+2 T>G。例3检测示*SLC12A1*基因存在大片段纯合缺失突变。例4检测示*SLC12A1*的2个等位基因存在缺失突变。

5例患儿中,根据呋塞米/氢氯噻嗪负荷试验结果,例1、2、5可初步诊断为GS,例3、4为BS。据文献报道,*CLCNKA*、*SLC12A1*、*BSND*、*KCNJ1*、*CLCNKB*基因检测阳性提示为BS^[4,10],*SLC12A3*、*CLCNKB*基因检测阳性提示为GS^[4,10];而*CLCNKB*基因检测阳性患儿的临床表型跨度较大,临床上可表现为BS,亦可表现为GS^[10-13]。本研究从基因检测结果亦诊断例1、2、5为GS,例3、4为BS。5例患儿的负荷试验结果与基因诊断结果均吻合,可见按呋塞米/氢氯噻嗪负荷试验结果结合临床(有无低镁血症、高钙尿症和低钾程度),能较好地鉴别BS和GS。

所有患儿均予氯化钾口服,补钾量范围0.85~9.41 mmol/(kg·d),中位补钾量为2.58 mmol/(kg·d),例5因顽固性低钾血症,同时加用螺内酯治疗。有低镁血症的患儿同时予补充10%的硫酸镁;例3、4同时使用消炎痛治疗。经治疗后所有患儿血钾监测正常,有低镁血症的患儿血镁监测正常。在随访过程中,发现例3有左肾结石,例4有双肾结石,目前2例患儿的肾功能均正常。

2 讨论

BS多起病于婴幼儿时期,有多饮、多尿,常出现脱水征,有生长迟缓、高钙尿症,尿前列腺素E₂升高或正常^[14];而GS起病于学龄儿童、青春期或成年后,有手

表1 BS及GS患儿生化特征和基因检测结果

病例	就诊年龄 /岁	身高标准差 积分(HtSDs)	低镁血症	最低血钾值 /mmol·L ⁻¹	高钙尿症	氢氯噻嗪负荷 试验中 ΔFECl	呋塞米负荷 试验中 ΔFECl	临床诊断	基因诊断
1	10.76	-2.17	+	2.07	-	—	24.82%	GS	GS
2	15.72	-1.00	+	2.69	-	—	12.00%	GS	GS
3	2.46	-2.50	-	3.04	+	11.5%	1.10%	BS	BS
4	0.91	-4.04	-	3.00	+	15.0%	1.60%	BS	BS
5	1.04	-1.31	+	2.10	-	1.0%	26.00%	GS	GS

足搐搦、低镁血症、低尿钙^[14]。低镁血症虽是GS的特征,但部分患儿早期并未显现,某些患儿的低镁血症可在行呋塞米/氢氯噻嗪负荷试验后被诱发出(例1),也有的患儿随病程延长才显现(例5)。可见单纯从临床特征来鉴别诊断比较困难。

BS、GS的基因片段很长,且没有热点突变,基因诊断花费高、耗时长,因此在临床应用时,仍存在一定不足之处。基于BS为肾小管髓袢升支粗段的离子通道缺陷,临床表现类似于使用呋塞米后的改变。因此,使用呋塞米后,氯的排泄率并无明显改变,而使用氢氯噻嗪(作用在远曲小管)后,则会引起氯排泄率的增加。同样,GS为远曲小管的噻嗪类敏感的钠氯同向转运体缺陷,类似于使用氢氯噻嗪后的改变,当给予氢氯噻嗪后,氯排泄率无明显升高,但予呋塞米(作用在髓袢升支粗段)后,氯的排泄率明显上升^[3, 4]。根据这两种疾病对呋塞米/氢氯噻嗪的反应,可初步判断肾小管病变的部位,从而得出初步诊断,指导下一步目标基因的检测。对于呋塞米负荷试验前、后氯排泄分数的最大差值(ΔFeCl) $>2.3\%$ 和/或氢氯噻嗪负荷试验中 $\Delta\text{FeCl}<2.3\%$ 的患儿,可行Gitelman综合征相关的基因检测(*SLC12A3*、*CLCNKB*);若呋塞米负荷试验中 $\Delta\text{FeCl}<2.3\%$ 和/或氢氯噻嗪负荷试验中 $\Delta\text{FeCl}>2.3\%$,则行Bartter综合征相关的基因检测(*CLCNKA*、*CLCNKB*、*SLC12A1*、*BSND*、*KCNJ1*)。鉴于此种病理生理机制,且呋塞米/氢氯噻嗪负荷试验简单易行,在临床上可用于初步鉴别Bartter综合征和Gitelman综合征,以便早期应用非甾体类抗炎药物、维持内环境稳定,同时也可指导靶基因检测,减少医疗费用。

当然,在临床上实际应用呋塞米/氢氯噻嗪负荷试验诊断低钾血症、碱中毒性肾小管疾病时,也存在一些局限性。对于婴幼儿而言,收集尿液的难度较大;另外,对于已经在使用大剂量抗前列腺素或抗醛固酮药物的患儿,让患儿停药行负荷试验的可能性较小,而医师亦不能准确评估这些药物对利尿剂负荷试验的影响如何;而且,虽在本研究中没有观察到利尿剂负荷试验的不良反应,但对于这些患儿,尤其是BS患儿,由于肾小管髓袢升支粗段的离子通道存在缺陷,体内液体的平衡稳定主要依赖远曲小管的功能,因此,这类患儿要警惕急性血容量不足的可能,最好首选基因检测。

参考文献:

- [1] Naesens M, Steels P, Verberckmoes R, et al. Bartter's and Gitelman's syndromes: from gene to clinic [J]. Nephron

- Physiol, 2004, 96(3): 65-78.
- [2] Unwin R, Capasso G. Bartter's and Gitelman's syndromes: their relationship to the actions of loop and thiazide diuretics [J]. Curr Opin Pharmacol, 2006, 6(2):208-213.
- [3] Colussi G, Bettinelli A, Tedeschi S, et al. A thiazide test for the diagnosis of renal tubular hypokalemic disorders [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2007, 2(3): 454-460.
- [4] Seyberth HW, Schlingmann KP. Bartter- and Gitelman-like syndromes: salt-losing tubulopathies with loop or DCT defects [J]. Pediatr Nephrol, 2011, 26(10): 1789-1802.
- [5] Goswami RP, Mandal S, Karmakar PS, et al. Diuretic loading test and use of Bartter's Normogram in diagnosing a case of Gitelman's syndrome: relook into pathophysiology [J]. Indian J Nephrol, 2011, 21(4): 289-292.
- [6] Bettinelli A, Vezzoli G, Colussi G, et al. Genotype-phenotype correlations in normotensive patients with primary renal tubular hypokalemic metabolic alkalosis [J]. J Nephrol, 1998, 11(2): 61-69.
- [7] Adachi M, Tajima T, Muroya K, et al. Classic Bartter syndrome complicated with profound growth hormone deficiency: a case report [J]. J Med Case Rep, 2013, 7(1): 283.
- [8] Buyukcelik M, Keskin M, Kilic BD, et al. Bartter syndrome and growth hormone deficiency: three cases [J]. Pediatr Nephrol, 2012, 27(11): 2145-2148.
- [9] Colussi G, Rombola G, Brunati C, et al. Abnormal reabsorption of Na^+/Cl^- by the thiazide-inhibitable transporter of the distal convoluted tubule in Gitelman's syndrome [J]. Am J Nephrol, 1997, 17(2): 103-111.
- [10] Cruz A J, Castro A. Gitelman or Bartter type 3 syndrome? A case of distal convoluted tubulopathy caused by *CLCNKB* gene mutation [J]. BMJ Case Rep, 2013, Jan 22; 2013. pii: ber2012007929.
- [11] Jeck N, Konrad M, Peters M, et al. Mutations in the chloride channel gene, *CLCNKB*, leading to a mixed Bartter-Gitelman phenotype [J]. Pediatr Res, 2000, 48(6): 754-758.
- [12] Al-Shibli A, Yusuf M, Abounajab I, et al. Mixed Bartter-Gitelman syndrome: an inbred family with a heterogeneous phenotype expression of a novel variant in the *CLCNKB* gene [J]. Springerplus, 2014, 3: 96.
- [13] Zelikovic I, Szargel R, Hawash A, et al. A novel mutation in the chloride channel gene, *CLCNKB*, as a cause of Gitelman and Bartter syndromes [J]. Kidney Int, 2003, 63(1): 24-32.
- [14] Peters M, Jeck N, Reinalter S, et al. Clinical presentation of genetically defined patients with hypokalemic salt-losing tubulopathies [J]. Am J Med, 2002, 112(3): 183-190.

(收稿日期: 2015-09-28)

(本文编辑: 邹强)