

Una giovane ragazza con calcolosi recidivante e ipercalcemia

Nefrologo in corsia

Federica Di Maio¹, Matteo Vittori², PierFrancesco Bassi², Pierluigi Fulignati¹, Silvia D'Alonzo¹, Pietro Manuel Ferraro¹

¹UOC di Nefrologia Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli, Università Cattolica del Sacro Cuore (Roma)

² UOC di Urologia, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli, Università Cattolica del Sacro Cuore (Roma)



Federica Di Maio

Corrispondenza a:

Dott.ssa Federica Di Maio

Nefrologia, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli, Università Cattolica del Sacro Cuore

Via G. Moscati 31, 00168 Roma

telefono: 06-30159776

e-mail: federica.dimaio01@icatt.it

ABSTRACT

Mutazioni a carico del gene CYP24A1 sono associate ad alterazioni dell'attività dell'enzima 25-OH-D-24-idrossilasi, con conseguente disfunzione nel metabolismo della vitamina D. Tale deficit enzimatico può originare ipercalcemia, bassi livelli sierici di paratormone, ipercalciuria, nefrolitiasi e nefrocalcinosi. Si descrive il caso clinico di una giovane donna affetta da litiasi renale ricorrente, ipercalcemia ed ipercalciuria, la cui genesi è stata ricondotta a deficit dell'enzima 25-OH-D-24-idrossilasi, dunque a mutazione biallelica del gene CYP24A1.

PAROLE CHIAVE: calcolosi renale, CYP24A1, 25-OH-D-24-idrossilasi, ipercalcemia

ABSTRACT

Mutations of the CYP24A1 gene are associated with alterations in the activity of the enzyme 25-OH-D-24-hydroxylase, resulting in dysfunction of the metabolism of vitamin D. This enzymatic deficiency may cause hypercalcemia, low parathyroid hormone levels, hypercalciuria, nephrolithiasis and nephrocalcinosis. The clinical case of a young woman with recurrent renal lithiasis, hypercalcemia and hypercalciuria is described. These features are linked to deficiency of the enzyme 25-OH-D-24-hydroxylase, therefore to a biallelic mutation of the CYP24A1 gene.

KEYWORDS : nephrolithiasis, CYP24A1, 25-OH-D-24-hydroxylase, hypercalcemia

Introduzione

Il gene CYP24A1 codifica per l'enzima 25-OH-D-24-idrossilasi, che catalizza l'idrolisi e quindi la degradazione della 25(OH)D in 24-25(OH)D, la forma attiva della vitamina D. Mutazioni inattivanti a carico del gene CYP24A1 si associano ad alterata attività della 25-OH-D-24-idrossilasi che può determinare ipercalcemia, bassi livelli sierici di paratormone, ipercalciuria e conseguenti nefrolitiasi e nefrocalcinosi.

Presentiamo il caso di una giovane donna con storia di litiasi renale ricorrente ed infezioni delle vie urinarie, tendenza ad ipercalcemia, ipercalciuria, bassi livelli sierici di paratormone (PTH) ed ipovitaminosi D. Allo screening molecolare la paziente risultava portatrice delle varianti patogenetiche p.E143del e p.R396W del gene CYP24A1; i test genetici eseguiti sui genitori della paziente confermavano che le due varianti erano presenti in eterozigosi.

Caso clinico

Una donna di 25 anni giunge alla nostra attenzione per litiasi renale ricorrente. Il primo episodio di calcolosi renale si manifestava all'età di 18 anni con dolore colico ed infezione delle vie urinarie; gli esami ematochimici evidenziavano calcemia ai limiti superiori della norma, insufficienza di vitamina D, bassi livelli di PTH sierici ed ipercalciuria. Gli episodi di colica renale si presentavano ricorrenti ed i reperti laboratoristici ripetuti nel tempo confermavano le tendenze anomale della prima manifestazione (Tabella 1).

Tabella 1

	Calcio (s) mg/dl	Fosforo (s) mg/dl	Calcio (u/24h) mg/24h	Citrato (u/24h)	Vit D3 nmol/l	PTH pg/ml
Lug 2010	9.9	3.2	288	292	68.8	6.1
Nov 2012	10.5	2.75	452	263	67	< 2.5
Lug 2014	10.2	3.52	465	357	61	4.1
Gen 2017	10.1	2.9	152	454	67	5.5

Variazione degli esami di laboratorio della paziente nel tempo

All'età di 23 anni, in considerazione delle immagini di tomografia computerizzata (TC) che mostravano multipli calcoli al rene di sinistra, la paziente veniva sottoposta ad intervento di ureterorenoscopia e litotrissia, con successivo posizionamento di stent JJ. Per il persistere della sintomatologia, degli esami di laboratorio e delle immagini TC ascrivibili a litiasi renale ricorrente bilaterale, si forniva alla paziente il test di screening molecolare per il gene CYP24A1, dopo estrazione del DNA da sangue periferico ed amplificazione genica (PCR) con sequenziamento diretto. L'esame era stato eseguito sull'intera regione codificante degli esoni 1-11 comprensiva dei tratti di giunzione esone-introne, come da protocollo. L'indagine genetica aveva evidenziato la presenza di due varianti patogenetiche: la delezione p.E143del e la mutazione missenso p.R396W presenti rispettivamente negli esoni 2 e 9 del gene CYP24A1. Tali varianti sono associate ad

alterata attività enzimatica dell'enzima 25-OH-D-24-idrossilasi, codificato dallo stesso gene e, come conseguenza, ad un quadro di ipercalcemia, bassi livelli di PTH, ipercalciuria e calcoli renali. L'indagine genetica veniva estesa ai genitori della paziente: il padre, affetto da calcolosi renale ad esordio in età adulta, era risultato portatore della delezione p.E143del, la madre, non affetta da litiasi renale, aveva presentato la mutazione missenso p.R396W del gene CYP24A1. In considerazione della diagnosi genetica e del fenotipo della paziente, si poneva indicazione ad aumento dell'*intake* idrico (3500 ml/die), dieta ipocalcica, evitare esposizione al sole, evitare integratori contenenti vitamina D, intraprendere terapia con Amiloride cloridrato 5mg/Iidroclorotiazide 50 mg/die e Citrato di potassio 3.5 g/die, ottenendo un buon controllo clinico della patologia: nessuna evidenza di nuove formazioni litiasiche od ingrandimento dei calcoli preesistenti.

Discussione

Il gene CYP24A1 codifica per l'enzima mitocondriale CYP24A1, che contiene un dominio del citocromo P450 responsabile dell'inattivazione di $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ e 25OHD, risultanti in $1\alpha, 24,25(\text{OH})_3\text{D}$ e $24,25(\text{OH})_2\text{D}$. L'enzima CYP24A1 è inibito con un meccanismo di feedback da $1\alpha, 24,25(\text{OH})_3\text{D}$ e stimolato da $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}$ e PTH (1). È noto che le mutazioni bialleliche del gene CYP24A1, seppur rare, originano alterazioni nel metabolismo della vitamina D, ovvero determinano accumulo della sua forma inattiva. Il deficit enzimatico di 25-OH-D3-24-idrossilasi può sottendere ad ipercalcemia, ipercalciuria, nefrolitiasi e nefrocalcosi, ad esordio tardivo o precoce, di variabile severità. In considerazione del fenotipo molto eterogeneo della patologia, è interessante notare che molti pazienti possono presentare le prime complicanze associate al deficit enzimatico, e dunque diagnosticarlo, in età giovanile o adulta e non in età pediatrica, come è stato inizialmente riportato. Infatti la prima traccia in letteratura scientifica descriveva dieci pazienti pediatriche che presentavano ipercalcemia idiopatica infantile e mutazione biallelica del CYP24A1 (1). Da quel momento sono stati pubblicati diversi casi di mutazione del gene CYP24A1 ed ipercalcemia, sia in età pediatrica che in età adulta (2–18). Sebbene la maggior parte degli studi sia concorde nel definire la trasmissione autosomica recessiva, alcuni Autori suggeriscono una trasmissione autosomica dominante a penetranza incompleta. La presenza di una singola mutazione è stata correlata a caratteristiche cliniche e biochimiche intermedie fra quelle tipiche delle mutazioni bialleliche ed il "wild type": la specifica mutazione, insieme a fattori ambientali come l'esposizione al sole o supplementi di vitamina D, può determinare il fenotipo clinico (18). Le caratteristiche del caso clinico descritto sono coerenti con questa ipotesi: la paziente presentava una mutazione biallelica (delezione p.E143del e missenso p.R396W) ed un aspetto clinico severo, con nefrolitiasi ricorrente fin dalla tarda adolescenza, ipercalcemia, ipercalciuria e PTH ridotto. È possibile che ci sia diretta correlazione, in un soggetto affetto da deficit di 25-OH-D3-24-idrossilasi, fra mutazione biallelica di CYP24A1 ed il palesarsi di un quadro clinico conclamato; altresì, il fenotipo può dipendere ampiamente dal regime dietetico accolto, come l'introduzione supplementare di calcio o di vitamina D, od anche da altre variabili genetiche, come la sensibilità del recettore del calcio (19). Tuttavia, anche il tipo di mutazione potrebbe contribuire alla variabilità fenotipica del deficit enzimatico di 25-OH-D3-24-idrossilasi: infatti, l'analisi molecolare estesa a livello familiare della paziente mostrava nel padre la variante deleta p.E143del e nella madre la variante missenso p.R396W. Quest'ultima si presentava completamente asintomatica, mentre il padre dimostrava in anamnesi calcoli renali ricorrenti ed ipercalcemia, ad esordio tardivo. Tali evidenze supportano l'ipotesi che sia la delezione pE143del a conferire severità al fenotipo clinico, mutazione patogenetica, nondimeno, con una frequenza molto bassa nella popolazione generale (0,06%) (1).

In conclusione, le disfunzioni associate alle varianti patogenetiche del gene CYP24A1 sono

associate a litiasi renale ricorrente, ipercalcemia, ipercalciuria, bassi livelli sierici di PTH, sia nell'adulto che nel bambino. Per tali ragioni è pertinente considerare le indagini di genetica molecolare come elemento fondamentale nell'identificazione del deficit di 25-OH-D-24-idrossilasi. Oltre a fornire al paziente una diagnosi circostanziata, l'approccio molecolare potrebbe ampliare le nostre conoscenze sulla patologia, sull'epidemiologia e migliorare il decorso clinico di una condizione potenzialmente grave.

BIBLIOGRAFIA

1. Schlingmann KP, Kaufmann M, Weber S et al (2011) Mutations in CYP24A1 and idiopathic infantile hypercalcemia. *N Engl J Med* 365(5):410–421.
2. Tebben PJ, Milliner DS, Horst RL et al (2012) Hypercalcemia, hypercalciuria, and elevated calcitriol concentrations with autosomal dominant transmission due to CYP24A1 mutations: effects of ketoconazole therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 97(3):E423–E427.
3. Streeten EA, Zarbalian K, Damcott CM (2011) CYP24A1 mutations in idiopathic infantile hypercalcemia. *N Engl J Med* 365(18):1741–1743.
4. Dauber A, Nguyen TT, Sochett E et al (2012) Genetic defect in CYP24A1, the vitamin D 24-hydroxylase gene, in a patient with severe infantile hypercalcemia. *J Clin Endocrinol Metab* 97(2):E268–E274.
5. Castanet M, Mallet E, Kottler M-L (2013) Lightwood syndrome revisited with a novel mutation in CYP24 and vitamin D supplement recommendations. *J Pediatr* 163(4):1208–1210.
6. Meusburger E, Mündlein A, Zitt E, Obermayer-Pietsch B, Kotzot D, Lhotta K. (2013) Medullary nephrocalcinosis in an adult patient with idiopathic infantile hypercalcaemia and a novel CYP24A1 mutation. *Clin Kidney J* 6(2):211–215.
7. Fencl F, Bláhová K, Schlingmann KP, Konrad M, Seeman T (2013) Severe hypercalcemic crisis in an infant with idiopathic infantile hypercalcemia caused by mutation in CYP24A1 gene. *Eur J Pediatr* 172(1):45–49.
8. Dinour D, Beckerman P, Ganon L, Tordjman K, Eisenstein Z, Holtzman EJ (2013) Loss-of-function mutations of CYP24A1, the vitamin D 24-hydroxylase gene, cause long-standing hypercalciuric nephrolithiasis and nephrocalcinosis. *J Urol* 190(2):552–557.
9. Nesterova G, Malicdan MC, Yasuda K et al (2013) 1,25-(OH)₂D-24 hydroxylase (CYP24A1) deficiency as a cause of nephrolithiasis. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN* 8(4):649–657.
10. Colussi G, Ganon L, Penco S et al (2014) Chronic hypercalcaemia from inactivating mutations of vitamin D 24-hydroxylase (CYP24A1): implications for mineral metabolism changes in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc—Eur Ren Assoc* 29(3):636–643.
11. Jacobs TP, Kaufman M, Jones G et al (2014) A lifetime of hypercalcemia and hypercalciuria, finally explained. *J Clin Endocrinol Metab* 99(3):708–712.
12. Wolf P, Müller-Sacherer T, Baumgartner-Parzer S et al (2014) A case of “late-onset” idiopathic infantile hypercalcemia secondary to mutations in the CYP24A1 gene. *Endocr Pract Off J Am Coll Endocrinol Am Assoc Clin Endocrinol* 20(5):e91–e95.
13. Downen FE, Sayers JA, Hynes AM, Sayer JA (2014) CYP24A1 mutation leading to nephrocalcinosis. *Kidney Int* 85(6):1475.
14. Figueres M-L, Linglart A, Bienaime F et al (2015) Kidney function and influence of sunlight exposure in patients with impaired 24-hydroxylation of vitamin D due to CYP24A1 mutations. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found* 65(1):122–126.
15. Molin A, Baudoin R, Kaufmann M et al (2015) CYP24A1 mutations in a cohort of hypercalcemic patients: evidence for a recessive trait. *J Clin Endocrinol Metab* 100(10):E1343–E1352.
16. Cools M, Goemaere S, Baetens D et al (2015) Calcium and bone homeostasis in heterozygous carriers of CYP24A1 mutations: a cross-sectional study. *Bone* 81:89–96.
17. Ketha H, Kumar R, Singh RJ (2016) LC-MS/MS for identifying patients with CYP24A1 mutations. *Clin Chem* 62(1):236–242.
18. O’Keeffe DT, Tebben PJ, Kumar R, Singh RJ, Wu Y, Wermers RA (2016) Clinical and biochemical phenotypes of adults with monoallelic and biallelic CYP24A1 mutations: evidence of gene dose effect. *Osteoporos Int* 1–15. doi:10.1007/s00198-016-3615-6.
19. Halbritter J, Baum M, Hynes AM et al (2015) Fourteen monogenic genes account for 15% of nephrolithiasis/nephrocalcinosis *J Am Soc Nephrol* 26(3):543–551.