

Ipercalcemia ipocalciurica familiare tipo 1 probabilmente secondaria a nuova mutazione inattivante di CASR

Nefrologo in corsia

Zanchelli¹, A. Giudicissi¹, L. Neri¹, V. Sgarlato¹, P.F. Bruno¹, M. Ruggeri¹, S. Signorotti¹, D. Apuzzo², E. Notaro², A. Buscaroli¹

1 U.O. Nefrologia e Dialisi, Ospedale "M. Bufalini", Cesena, Italia
2 Nefrologia, Dialisi e Trapianto, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, Alma Mater Studiorum Università di Bologna, Italia

Corrispondenza a:

Fulvia Zanchelli
UO di Nefrologia e Dialisi di Cesena
Ospedale M. Bufalini, Viale Giovanni Ghirelli, 286
47521 Cesena (FC), Italia
Tel. 0547/352104
E-mail: fulvia.zanchelli@auslromagna.it



Fulvia Zanchelli

ABSTRACT

L'ipercalcemia ipocalciurica familiare (Familial Hypocalciuric Hypercalcemia – FHH) è una malattia ereditaria a trasmissione autosomica dominante caratterizzata dalla presenza di ipercalcemia in genere lieve-moderata, ipofosforemia, ipocalciuria e valori di PTH normali o moderatamente aumentati. Generalmente FHH è clinicamente muta, anche se possono manifestarsi sintomi legati a elevati valori plasmatici di calcio quali astenia, sete intensa, poliuria, polidipsia o stato confusionale.

Sono descritti tre tipi di FHH, che differiscono per le alterazioni genetiche che sottendono alla patologia. La maggioranza dei casi di FHH viene classificata come tipo 1 (circa il 65% dei casi), e sono dovuti a mutazione del gene per il recettore Calcio-sensibile CASR, espresso sul cromosoma (Chr) 3q13.3-21, che codifica per una proteina recettore calcio sensibile accoppiato a proteine G della membrana plasmatica. Il tipo 2 e 3 di FHH sono dovuti rispettivamente a mutazioni GNA11 e AP2S1 rispettivamente, e verosimilmente sono ancora da identificare altri geni coinvolti nella patogenesi della malattia. Raramente l'ipercalcemia ipocalciurica familiare può non riconoscere una causa genetica ma essere provocata da autoanticorpi diretti contro CASR.

La frequenza della patologia non è conosciuta e viene stimata, probabilmente in difetto, a causa della presentazione paucisintomatica della malattia, intorno ad 1:80000 casi.

Il riconoscimento di FHH è importante soprattutto per la diagnosi differenziale con l'iperparatiroidismo primitivo, che presenta un'incidenza molto superiore di circa 1:1000 casi, oltre che per permettere l'identificazione di pazienti a rischio di condrocalcinosi e/o pancreatite. Il sospetto clinico deve essere posto nei casi di ipercalcemia associata a ipocalciuria, e l'analisi genetica è fondamentale nella diagnosi differenziale verso forme di iperparatiroidismo primitivo che potrebbero evitare interventi chirurgici non necessari.

Descriviamo un caso clinico in cui si è riscontrata una nuova mutazione inattivante di CASR conducente a FHH di tipo 1.

PAROLE CHIAVE: ipercalcemia ipocalciurica familiare, CASR, gene, paratiroidi, calcio

Caso clinico

Paziente maschio, caucasico, 40 anni, due figlie in età scolare. Anamnesticamente nato da gravidanza a termine espletata con parto eutocico, non si rilevano patologie neonatali, né nell'età adulta.

Nel 2018 riscontro di neoplasia renale, sottoposto a nefro-surrenectomia sinistra con diagnosi di carcinoma a cellule chiare. Nel corso del follow-up riscontro di neoformazione renale destra per cui è stato sottoposto ad enucleazione con riscontro istologico di carcinoma papillare a cellule chiare. Era stato analizzato un pannello di geni associati alla predisposizione ereditaria allo sviluppo di tumori, in particolare per la ricerca di alterazioni di FLCN, con esito negativo.

Per riscontro di ipercalcemia 10,9 mg/dl (vn (valori normali) 8,6-10,2 mg/dL) con PTH 88 ng/L (vn 15-65 ng/L) il paziente è stato inviato a visita endocrinologica. Il paziente non ha mai assunto supplementazioni di vitamina D. Gli esami di controllo documentavano creatinina 1,02 mg/dL (vn 0,50-1,00 mg/dL), VFG 76 mL/min/1.73m², Na 140 mmol/L (vn 136-145 mmol/L), K 4,9 mmol/L (vn 3,5-5,1 mmol/L), Mg 2,1 mg/dL (vn 1,6-2,6 mmol/L), PTH 51 ng/L, P 3,8 mg/dL (vn 2,7-4,5 mg/dL), P urinario 29,1 mg/dL, albumina 4,6 g/L (vn 35-50 g/L), creatinina urinaria 83 mg/dL, calcio urinario 1,6 mg/dL. Un ulteriore approfondimento laboratoristico confermava la presenza di ipercalcemia 10,9 mg/dL, Mg 2,2 mg/dL, osteocalcina mcg/L (vn 14-46), telepeptide beta-crosslaps 1,27 µg/L (vn 0,05-0,75 µg/L), vitamina D 25-OH 45,8 (vn>20,0 AIFA 2009), PTH 56 ng/L. Il quadro laboratoristico non era compatibile con iperparatiroidismo primitivo per i valori di calciuria e fosfato e il paziente è stato inviato dallo specialista endocrinologo a consulto nefrologico ambulatoriale.

Il paziente riferiva pieno benessere, non presentava alcuna alterazione obiettivabile, i valori di creatinina erano oscillanti tra 1,2-1,4 mg/dL, e alla ricostruzione anamnestica si evidenziava storia di ipercalcemia lieve moderata documentabile nella madre con valori di calcemia intorno a 11,3 mg/dL, P 3,2 mg/dL, PTH 25 ng/L. Data la presenza di ipercalcemia verosimilmente familiare con PTH inappropriatamente normale o modicamente aumentato e ipocalciuria inappropriata per i livelli di calcemia, sono stati calcolati il rapporto tra calcio urinario e creatinina urinaria (Ca/Cr clearance ratio) documentando un valore di 0,002, altamente indicativo di FHH [1–3], e il valore di TmP/GFR risultato pari a 3,8 (vn per paziente con età>16 anni compreso tra 2,6-3,8 mg/dL), risultato ai limiti superiori della norma; il paziente è stato sottoposto a consulenza genetica nel sospetto di ipercalcemia ipocalciurica familiare [4].

Sono state analizzate le sequenze genetiche le cui alterazioni si associano a questa condizione, identificando una variante probabilmente patogenetica per carico del gene CASR (c.302G>C p>Cys101Ser). Mutazioni del gene CASR rappresentano la maggior parte delle cause genetiche della FHH, e l'alterazione è da ritenersi causativa del quadro clinico del paziente.

Poiché la malattia presenta trasmissione autosomica dominante la trasmissione ai figli (maschi e femmine) è del 50%. Nel caso descritto è probabile che l'alterazione di CASR al probando sia stata trasmessa dalla madre, e in quest'ultima è indicato effettuare la ricerca della variante del gene CASR c302G>C p.(Cys101Ser).

Gene	Esone/introne	Tipo	Nucleotide	Aminoacido	rs (dbNSP)	Zigosità	Origine	Ereditarietà	Rilevanza clinica
CASR	3	Missenso	c.302G>C	p.(Cys101Ser)	–	Eterozigosi	Non nota	AD	Probabilmente patogenetica

Tabella 1. L'analisi ha evidenziato un coverage medio di 237X, un coverage di 100X nel 90,55% e di 20X nel 98,67% delle regioni target analizzabili. La variante identificata è stata confermata con sequenziamento Sanger su seconda estrazione di DNA.

L'interpretazione delle varianti riportate nel referto segue le indicazioni presenti nelle Linee Guida dell'American College of Medical Genetics and Genomics. Relativamente ai risultati secondari, vengono considerate solo le varianti patogenetiche note e quelle predette patogenetiche secondo la versione v3.1 delle raccomandazioni dell'American College of Medical Genetics and Genomics.

La madre del paziente è stata sottoposta a ricerca della variante del gene CASR identificata nel probando. Qualora la mutazione fosse presente il test potrebbe sostenere la patogenicità della condizione, mentre non c'è indicazione all'esecuzione del test genetico nelle figlie del probando durante l'infanzia, data l'assenza di sintomatologia clinica. Si consiglia invece lo studio metabolico dell'omeostasi calcio-fosforo attraverso esami di controllo di routine.

Per ulteriore precisazione clinica sono state ricercate sulle indagini di imaging effettuate dal paziente calcificazioni pancreatiche o segni di condrocalcinosi, che allo stato attuale non sono stati riscontrati.

Discussione

L'ipercalcemia ipocalciurica familiare (Familial Hypocalciuria Hypercalcemia – FHH) è una malattia ereditaria a trasmissione autosomica dominante, generalmente asintomatica e con decorso stabile e benigno. La sintomatologia, quando presente, è generalmente sfumata e conseguenza degli elevati valori di calcio, e può comprendere astenia, poliuria, polidipsia, confusione mentale, ma anche condrocalcinosi e aumentato rischio di pancreatiti per deposizione intraduttale pancreatica di calcio [5].

CASR è una proteina dimerica transmembrana che opera in costante presenza del suo agonista calcio [6]; presenta al suo estremo extracellulare molteplici cariche negative che legano i cationi presenti nel sangue, legando il calcio a bassa affinità e inducendo l'attivazione di molteplici vie intracellulari che inducono aumento dei valori di calcio nel citosol. La risposta fisiologica consiste nella riduzione della secrezione di paratormone dalle cellule paratiroidi.

A livello renale diminuisce l'assorbimento tubulare di calcio nel tubulo prossimale e nel tratto ascendente spesso dell'ansa di Henle [7].

Mutazioni di CASR riducono la sensibilità del tessuto paratiroideo e renale al calcio, elevando così il set point del calcio; sono così necessari livelli calcemici maggiori per ridurre del 50% la secrezione massimale di PTH, e ridurre il riassorbimento di calcio e magnesio nell'epitelio tubulare, causando quindi ipercalcemia, ipocalciuria, e livelli normali/elevati di ione Mg e tale condizione è erroneamente percepita come normale.

Una delle peculiarità di CASR è quella di essere immagazzinato a livello del reticolo endoplasmatico e dell'apparato di Golgi, essendo così immediatamente disponibile anche in presenza di valori elevati e stabili di calcio ematico, attraverso un fenomeno denominato ADIS (agonist-driven insertional signalling).

I casi di FHH con mutazioni del gene per CASR vengono classificati come FHH di tipo 1 [8].

Il tipo 2 e 3 di FHH sono dovuti a mutazioni del cromosoma 19, rispettivamente nel braccio corto del cromosoma 19 in FHH tipo 2 e nel braccio lungo del cromosoma 19, in FHH di tipo 3, e verosimilmente sono ancora da identificare altri geni coinvolti nella patogenesi della malattia [9, 10].

Raramente l'ipercalcemia ipocalciurica familiare può non riconoscere una causa genetica ma essere provocata da autoanticorpi diretti contro CASR [11].

La frequenza della patologia non è conosciuta e viene stimata, probabilmente in difetto a causa della presentazione paucisintomatica della malattia, intorno ad 1:80000 casi.

Conclusioni

Nel paziente descritto è stata riscontrata una variante del gene CASR missenso c302G>C p.(Cys101Ser) in eterozigosi a trasmissione autosomica dominante interpretata come probabilmente patogenetica per consolidato studio funzionale in-vitro indicativo di un effetto dannoso sul gene o sul prodotto genico, per variante assente nei database di consultazione [12], per essere variante missenso di un gene che presenta una bassa percentuale di geni missenso benigne e le cui varianti missenso sono comunemente associate a malattia, per essere variante missenso predetta deleteria con punteggio REVEL>0.7, e infine per quesito diagnostico e storia familiare riportate dallo specialista prescrittore specifici per il gene implicato [13–15].

Il riconoscimento di FHH è importante soprattutto per la diagnosi differenziale con l'iperparatiroidismo primitivo, che presenta un'incidenza molto superiore, circa 1:1000 casi, in cui possono documentarsi adenoma in singola ghiandola paratiroidea nell'80% dei casi, iperplasia delle paratiroidi nel 10-15% dei casi, adenomi multipli paratiroidi nel 5% dei casi e adenocarcinoma in una percentuale inferiore all'1% [16, 17]. Oltre alla diagnosi differenziale con l'iperparatiroidismo primitivo, la diagnosi genetica di FHH permette l'identificazione di pazienti a rischio di condrocalcinosi e/o pancreatite.

Tutti i pazienti con diagnosi di sospetto iperparatiroidismo primitivo che non presentino sintomi maggiori quali calcolosi, dolori addominali, malattia scheletrica, alterazioni psichiatriche e che abbiano un rapporto calcio/creatinina urinaria < 0,20 devono essere sottoposti a consulenza genetica con quesito specifico di diagnosi differenziale tra iperparatiroidismo primitivo e/o sospetta FHH. Un valore di ratio < 0,02 presenta una sensibilità pari al 93% per FHH, allo scopo di evitare inappropriati interventi di paratiroidectomia parziale.

Per la paucisintomaticità del quadro FHH non richiede generalmente alcun trattamento se non la sorveglianza clinico-laboratoristica; in presenza di elevati valori di calcio è suggerito il trattamento sintomatico dell'ipercalcemia, mentre per il controllo a lungo termine dell'ipercalcemia è proposto il trattamento con calciomimetici, che legandosi come agonisti ai CASR paratiroidi riducono la sintesi e la secrezione di PTH. Marx propone la somministrazione di calciomimetici in pazienti con valori di calcemia costantemente superiori a 11,2 mg/dL, ovvero > di 1 mg/dL rispetto ai valori massimi della norma in assenza di sintomatologia riferibile a ipercalcemia, o in pazienti che presentano valori di calcio ai limiti superiori della norma con sintomi riferibili a ipercalcemia [18].

La collaborazione tra endocrinologo, nefrologo e genetista, oltre che la scrupolosa raccolta dei dati anamnestici e clinici, riveste un ruolo fondamentale per avviare il paziente a un corretto iter diagnostico e terapeutico.

BIBLIOGRAFIA

1. Orphanet: Familial hypocalciuric hypercalcemia.
2. Mastromatteo E., Berti G. Ipercalcemia ipocalciurica familiare: tra genetica e clinica. *L'Endocrinologo* 22, 365–367 (2021). <https://doi.org/10.1007/s40619-021-00938-w>.
3. Pallais J.C., Kifor O., Chen Y.-B., Slovik D., Brown E.M. Acquired hypocalciuric hypercalcemia due to autoantibodies against the calcium-sensing receptor. *N Engl J Med* 2004; 351: pp. 362-369. <https://doi.org/10.1056/nejmoa040008>.
4. Christensen SE, Nissen PH, Vestergaard P, Mosekilde L. Familial hypocalciuric hypercalcaemia: a review. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2011 Dec;18(6):359-70. <https://doi.org/10.1097/med.0b013e32834c3c7c>.
5. Lee JY, Shoback DM. Familial hypocalciuric hypercalcemia and related disorders. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2018 Oct;32(5):609-619. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2018.05.004>.
6. Grant MP, Stepanchick A, Cavanaugh A, Breitwieser GE. Agonist-driven maturation and plasma membrane insertion of calcium-sensing receptors dynamically control signal amplitude. *Sci Signal.* 2011 Nov 22;4(200) p:ra78. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2002208>.
7. Riccardi D, Brown EM. Physiology and pathophysiology of the calcium-sensing receptor in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010 Mar;298(3):F485-99. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00608.2009>.
8. Law WM Jr, Heath H 3rd. Familial benign hypercalcemia (hypocalciuric hypercalcemia). Clinical and pathogenetic studies in 21 families. *Ann Intern Med.* 1985 Apr;102(4):511-9. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-102-4-511>.
9. Heath H 3rd, Jackson CE, Otterud B, Leppert MF. Genetic linkage analysis in familial benign (hypocalciuric) hypercalcemia: evidence for locus heterogeneity. *Am J Hum Genet.* 1993 Jul;53(1):193-200. PMID: PMC1682230.
10. Hovden S, Rejnmark L, Ladefoged SA, Nissen PH. AP2S1 and GNA11 mutations – not a common cause of familial hypocalciuric hypercalcemia. *Eur J Endocrinol.* 2017 Feb;176(2):177-185. <https://doi.org/10.1530/eje-16-0842>.
11. Pallais JC, Kemp EH, Bergwitz C, Kantham L, Slovik DM, Weetman AP, Brown EM. Autoimmune hypocalciuric hypercalcemia unresponsive to glucocorticoid therapy in a patient with blocking autoantibodies against the calcium-sensing receptor. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Mar;96(3):672-80. <https://doi.org/10.1210/jc.2010-1739>.
12. gnomAD, 1 – ClinVar – NCBI (nih.gov)..
13. Haldeman-Englert CR, Hurst ACE, Levine MA. Disorders of GNAS Inactivation. In: GeneReviews®. University of Washington, Seattle, Seattle (WA); 1993. PMID: 29072892
14. Miller DT, Lee K, Chung WK, Gordon AS, Herman GE, et al. ACMG Secondary Findings Working Group. ACMG SF v3.0 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 2021 Aug;23(8):1381-1390. <https://doi.org/10.1038/s41436-021-01171-4>.
15. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, et al. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. 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 May;17(5):405-24. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>.
16. Sandrine Lemoine, Lucile Figueres, Justine Bacchetta, Samuel Frey, Laurence Dubourg, Calcium homeostasis and hyperparathyroidism: Nephrologic and endocrinologic points of view, *Annales d'Endocrinologie*, Volume 83, Issue 4, 2022, Pages 237-243. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2022.05.003>.
17. Eastell R, Brandi M, Costa A, et al. Diagnosis of asymptomatic primary hyperparathyroidism: proceedings of the fourth international workshop. *J Clin Endocrinol Metab*2014;99:3570–9. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-1414>.
18. Marx SJ. Calcimimetic Use in Familial Hypocalciuric Hypercalcemia-A Perspective in Endocrinology. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017 Nov 1;102(11):3933-3936. <https://doi.org/10.1210/jc.2017-01606>.