

## NUEVAS MUTACIONES EN LOS GENES QUE CODIFICAN EL RECEPTOR DEL SENSADO DE CALCIO COMO CAUSA DE HIPERCALCEMIA HIPOCALCIÚRICA FAMILIAR

MARCELO SARLI<sup>1,2</sup>, ELBIO GENOVESI<sup>1</sup>, LUCIANA LEVI<sup>1</sup>, DAMIÁN ROBIANI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Metabólicas, <sup>2</sup>Cátedra de Osteología,  
Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina

**Dirección postal:** Marcelo Sarli, Instituto de Investigaciones Metabólicas, Libertad 836, 1012 Buenos Aires, Argentina

**E-mail:** sarlimarcelo@gmail.com

**Recibido:** 6-III-2024

**Aceptado:** Aceptado: 28-X-2024

### Resumen

La hipercalcemia es un motivo poco frecuente de consulta en la práctica clínica y muchas veces es un hallazgo incidental en una evaluación bioquímica rutinaria. Su causa más frecuente es el hiperparatiroidismo primario. Raramente, la hipercalcemia se debe a mutaciones en la vía de señalización del receptor sensor del calcio (CaSR) que dan lugar a las distintas formas de hipercalcemia hipocalciúrica familiar (HHF). Dos aspectos son fundamentales para sospechar una probable HHF, el primero es la existencia de otros casos en la familia de elevación del calcio y la PTH asociados a una baja excreción urinaria de calcio. En este contexto, una relación entre la depuración de calcio y de creatinina= (Ca orina 24 h x Cr plasma) / (Cr orina 24 h x Ca plasma)  $\leq 0.01$  resulta altamente sugestivo del diagnóstico de HHF lo que ulteriormente se deberá confirmar mediante secuenciación de los genes involucrados en las distintas formas de HHF. Se presentan dos familias con HHF con mutaciones no descritas en la literatura.

**Palabras clave:** hipercalcemia, hipocalciuria, hiperparatiroidismo

### Abstract

*New mutations in the calcium-sensing receptor encoding genes as a cause of familial hypocalciuric hypercalcemia*

Hypercalcemia is a rare reason for consultation in clinical practice and is often an incidental finding in a

routine biochemical evaluation. Its most frequent cause is primary hyperparathyroidism. Rarely, hypercalcemia is due to mutations in the calcium-sensing receptor (CaSR) signaling pathway that give rise to the different forms of familial hypocalciuric hypercalcemia (FHH). Two aspects are essential to suspect a probable FHH, the first is the existence of other cases in the family of elevated calcium and PTH associated with low urinary calcium excretion. In this context, a calcium clearance to creatinine clearance ratio (Ca urine 24 h. x serum Cr) / (Cr urine 24 h x serum Ca)  $\leq 0.01$  is highly suggestive of the diagnosis of FHH, which should subsequently be confirmed by sequencing of the genes involved in the different forms of FHH. Two families with FHH with mutations not described in the literature are presented.

**Kew words:** hypercalcemia, hypocalciuria, hyperparathyroidism

La hipercalcemia hipocalciúrica familiar (HHF) es una enfermedad cuya etiopatogenia está dada por mutaciones en el CaSR. Cuando la mutación afecta la porción extracelular del receptor, responsable del sentido o detección de la calcemia, se produce la HHF tipo 1 (OMIM #145980); cuando muta el gen de la subunidad  $\alpha 11$  de la proteína G (GNA11) se produce la pérdida de la actividad de dicha proteína G, alterando eventos bioquímicos intracelulares post-receptor, dando lugar

a la HHF tipo 2 (OMIM #145981)<sup>1</sup>. Finalmente, mutaciones en el complejo proteico relacionado con el adaptador 2, subunidad sigma 1 (AP2S1) encargado de la expresión de membrana del CaSR, dan lugar a la HHF tipo 3 (OMIM #600740)<sup>2</sup>. A diferencia del hiperparatiroidismo primario, la HHF suele ser de curso indolente, sin presentar un efecto significativo a nivel óseo y renal<sup>3</sup>.

### Caso clínico 1

Una mujer de 58 años, asintomática, es derivada por presentar el hallazgo incidental de una calcemia de 10.9 (valores de referencia [VR]: 8.8–10.5) mg/dl. Una nueva evaluación bioquímica demostró: calcemia 11 mg/dl, fosfatemia 2.6 (VR: 2.5–4.5) mg/dl, PTHi 41 (VR: 10–65) pg/ml, vitamina D 25.6 ng/dl (> 30 indica suficiencia), calciuria 87 (VR: 100–220) mg/24h. Inicialmente se sospechó un hiperparatiroidismo primario, ya que sus valores de PTH eran inadecuados para sus niveles de calcemia. Se solicitaron una ecografía paratiroidea y un centellograma paratiroideo con tecnecio-99m sestamibi con SPECT. La ecografía paratiroidea mostró una imagen circunscripta y heterogénea de 8.7 x 7.3 x 12.6 mm de diámetro en la región paratiroidea inferior derecha sugestiva de un adenoma paratiroideo. El estudio centellográfico evidenció una pequeña imagen hipercaptante coincidente con la localización de la imagen ecográfica, aunque no podía definir claramente si se trataba de un adenoma. Para definir si la lesión hallada era de origen tiroideo o paratiroideo, se solicitó punción con aguja fina bajo control ecográfico, con estudio citológico y dosaje de tiroglobulina y PTHi en el lavado de aguja. Desafortunadamente, no se pudo detectar ninguna lesión susceptible de ser punzada. Finalmente, para definir si la paciente tenía un adenoma paratiroideo, se solicitó un PET con 18Fluor colina que no mostró lesiones compatibles con tejido paratiroideo hiperfuncionante. Ante la sospecha de una HHF, debido a la persistencia de los valores elevados de calcemia coincidentes con una baja calciuria y la negatividad en los estudios funcionales realizados, se completó la evaluación con una relación entre la depuración de calcio y de creatinina (CCCR) de 0.004 altamente sugestivo de HHF. Se solicitó la secuenciación de aquellos genes asociados a HHF: AP2S1, CaSR y GNA11. Se halló una mutación heterocigota en el exón 3 del gen CaSR caracterizada por un cambio nucleotídico c.449C>T, lo que determina un cambio aminoacídico p.(Ser150Phe) compatible con HHF tipo 1 (Fig. 1a). Se estudió a la única hija de la paciente, hallándose un cuadro bioquímico similar e igual mutación en el gen del CaSR. Se realizó un *screening* de calcemia y fosfatemia

en el único hermano de la paciente y sus seis sobrinos que mostró valores normales (Fig. 1b).

Se cuenta con el consentimiento informado de la paciente para la publicación del caso.

### Caso clínico 2

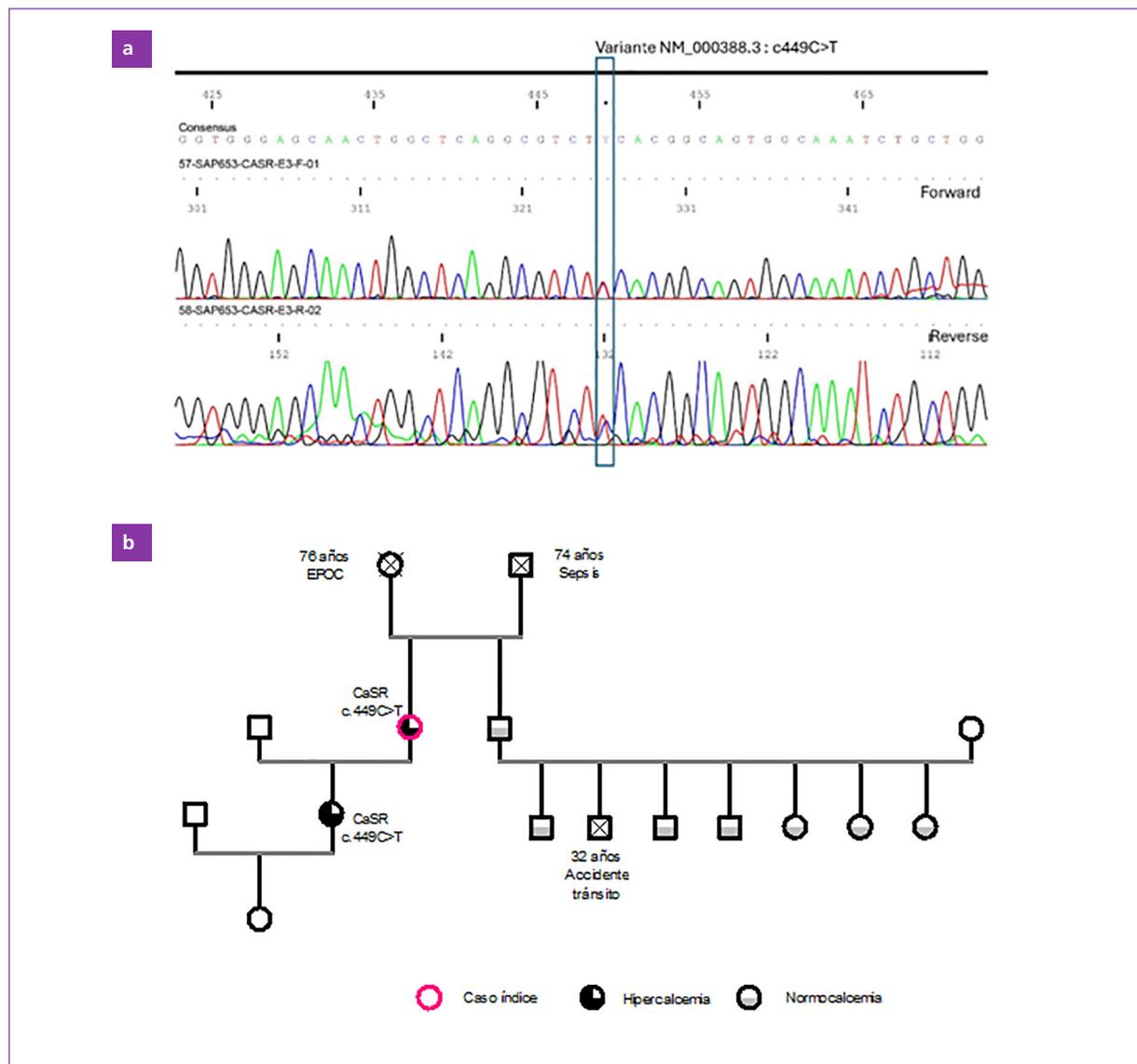
Mujer de 50 años que consultó por bocio multinodular, y en sus análisis de rutina se detectó calcemia 10.6 mg/dl, calciuria 142 (100–220) mg/24h, fosfatemia 3 mg/dl, creatinina plasmática 0.65 (0.60–1.10) mg/dl, creatinuria 1504 (740–1570) mg/24 h, vitamina D de 21.8 ng/dl y PTHi 62.1 pg/ml. Se solicitó densitometría ósea que resultó normal. Dado que persistió con hipercalcemia leve en controles sucesivos se le realizó centellograma paratiroideo con tecnecio-99m sestamibi y ecografía paratiroidea sin imágenes patológicas evidentes. La paciente tiene dos hijos varones, uno de ellos de 20 años fue evaluado por presentar calcemia de 11 mg/dl, solicitada en contexto de un control de salud; en el mismo tiempo que su madre era valorada en nuestra institución. El paciente estaba asintomático. No tenía antecedentes de litiasis renal ni de fracturas óseas; sus padres no eran consanguíneos. Una evaluación fosfocálcica mostró calcemia 10.9 mg/dl, fosfatemia 3.8 mg/dl, calciuria 103 (VR: 100–300) mg/24 h, creatinina plasmática 0.79 (VR: 0.90–1.30) mg/dl, creatinuria 1603 (1040–2350) mg/24h, PTHi 52.9 pg/ml, vitamina D 21.6 ng/dl. El otro hijo de la paciente de 23 años, también asintomático, presentó una calcemia 10.8 mg/dl, fosfatemia 3.3 mg/dl, calciuria 128 mg/24hs, creatinina plasmática 0.85 mg/dl, creatinuria 1416 mg/24hs y PTHi 47.0 pg/ml. En este contexto, se estudió al padre de los hermanos cuya calcemia de 9.2 mg/dl y fosfatemia 3.3 mg/dl fueron normales (Fig. 2). Frente a la sospecha diagnóstica de HHF se calculó el CCCR en la madre que fue 0.006, el hijo mayor 0.004 y el menor 0.007 respectivamente. Se completó la evaluación de la madre mediante estudio molecular donde se detectó una mutación en el gen GNA11, en el exón 3 con un cambio nucleotídico c.379C>T lo que determina una sustitución aminoacídica p.(Gln127Ter) compatible con HHF Tipo 2. Desafortunadamente, no pudo confirmarse la mutación por estudio molecular en los hijos ya que emigraron.

Se cuenta con el consentimiento informado de la paciente para la publicación del caso.

### Discusión

El gen CaSR está localizado en el brazo largo del cromosoma 3, región 3q13, y está constituido por 7 exones de los cuales 6 codifican para el CaSR. Desempeña un papel crucial contro-

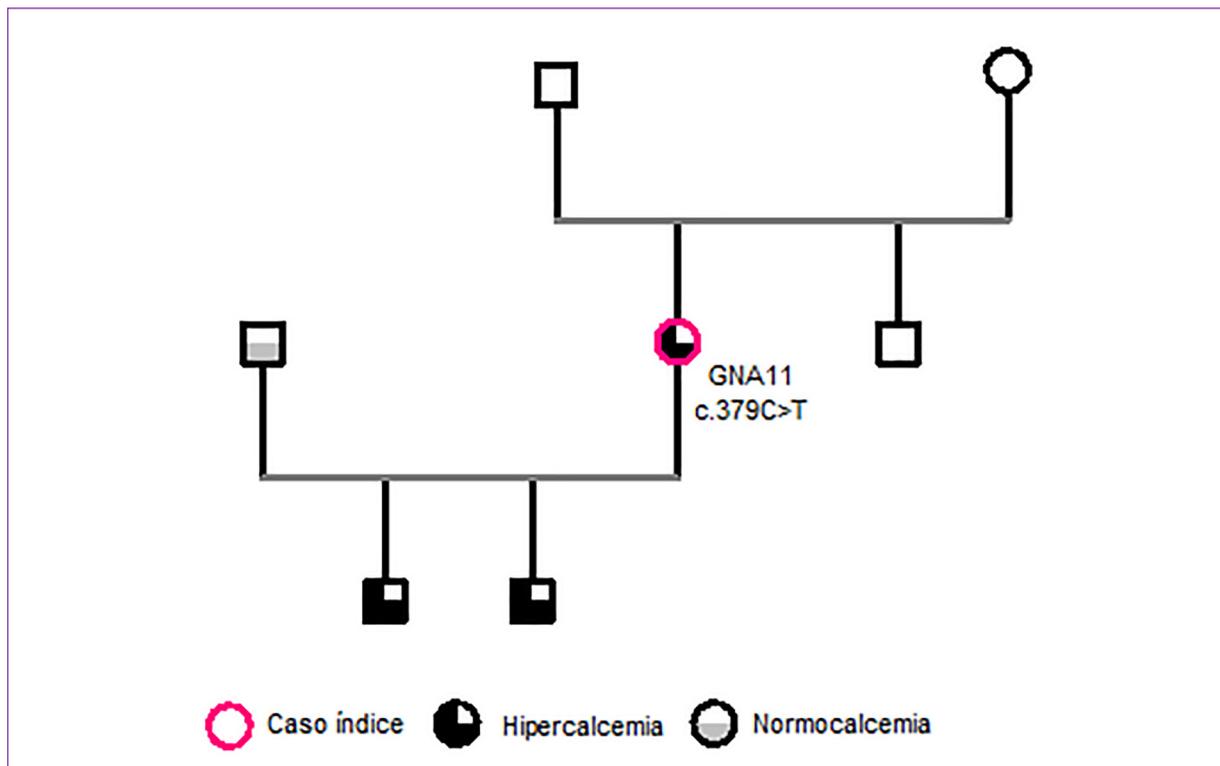
**Figura 1** | Electroferograma (a) de la secuenciación del gen sensor de calcio (CaSR) y árbol genealógico (b) del caso clínico 1



Flecha naranja señala una mutación heterocigota en el exón 3 del gen CaSR caracterizada por un cambio nucleotídico c.449C>T

lando la secreción de PTH y consecuentemente la calcemia y calciuria<sup>4</sup>. Se han descriptos cuadros de hipercalcemia e hipocalcemia relacionados a mutaciones inactivantes y activantes del mismo gen respectivamente<sup>5,6</sup>. La pérdida de función del CaSR presente en la HHF es autosómica dominante y de alta penetrancia<sup>6</sup>. En las células paratiroides afectadas aumenta el set point para la detección del calcio plasmático, haciendo necesarias calcemias más elevadas para reducir la liberación de PTH. En el riñón, este de-

fecto conduce a un aumento en la reabsorción tubular de calcio, lo que resulta finalmente en hipercalcemia e hipocalciuria (calcio urinario < 100 mg/24h) en la mayoría de los casos<sup>1,7,8</sup>. La HHF tipo 1, a la cual pertenece el caso clínico 1, es la forma más frecuente<sup>5</sup>. Al igual que la HHF tipo 2, suelen ser asintomáticas, aunque algunos pacientes pueden desarrollar condrocalcinosis<sup>9</sup> y pancreatitis<sup>10</sup>. La HHF merece su consideración en el diagnóstico diferencial de la hipercalcemia, pero existe una importante superposición

**Figura 2** | Árbol genealógico del caso clínico 2

GNA11: gen de la subunidad  $\alpha 11$  de la proteína G

bioquímica y clínica con el hiperparatiroidismo primario, lo que hace dificultoso su diagnóstico diferencial como sucedió en el caso clínico número 1. Excepcionalmente ambas entidades pueden coincidir<sup>11</sup>. Un CCCR menor de 0.01 resulta altamente sugestivo del diagnóstico de HHF<sup>12</sup>. Este ratio presenta una sensibilidad de 42.9% y especificidad de 89.9%<sup>13</sup>. Dada su baja sensibilidad, se deberá confirmar el diagnóstico mediante secuenciación de los genes involucrados en las distintas formas de HHF<sup>12</sup>. En caso clínico 1, el cambio nucleotídico (c.449C>T) no ha sido descrito previamente. La variación de una serina por una fenilalanina implica un cambio por un aminoácido con propiedades fisicoquímicas distintas en una posición altamente conservada de la proteína en diferentes especies de vertebrados. La cosegregación de esta mutación, en el grupo familiar también afectado, constituye una evidencia adicional a favor de la patogenicidad

de la misma para HHF. En el caso clínico 2, el caso índice afectado presenta la sustitución c.379C>T en heterocigosis en el exón 3 del gen GNA11. Esto genera un codón de terminación prematuro en la posición 127 p(Gln127Ter) de la cadena peptídica, dando como resultado una pérdida de función de la subunidad 11 de la proteína G. Esta mutación no ha sido reportada, como responsable de HHF tipo 2, pero el predictor bioinformático *Mutation Taster*<sup>15</sup><sup>14</sup>, juntamente con la coexistencia de un cuadro bioquímico compatible en la descendencia, predicen un efecto deletéreo. Consideramos fundamental tener presente a la HHF en el diagnóstico diferencial frente a un paciente con hipercalcemia con el fin de evitar, sobre todo, cualquier intervención quirúrgica innecesaria dado el curso benigno que presenta esta entidad en la mayoría de los casos.

**Conflicto de intereses:** Ninguno para declarar

## Bibliografía

1. Michigami T. Disorders Caused by Mutations in Calcium-Sensing Receptor and Related Diseases. *Clin Calcium* 2017; 27: 521-7.
2. Nesbit MA, Hannan FM, Howles SA, et al. Mutations in AP2S1 cause familial hypocalciuric hypercalcemia type 3. *Nat Genet* 2013; 45: 93-7.
3. Christensen SE, Nissen PH, Vestergaard P, et al. Skeletal consequences of familial hypocalciuric hypercalcaemia vs. primary hyperparathyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009; 71: 798-807.
4. Brown EM. Role of the calcium-sensing receptor in extracellular calcium homeostasis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2013; 27: 333-43.
5. Lee JY, Shoback DM. Familial hypocalciuric hypercalcemia and related disorders. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2018; 32: 609-19.
6. Dershem R, Gorvin CM, Metpally RPR, et al. Familial hypocalciuric hypercalcemia Type 1 and autosomal-dominant hypocalcemia Type 1: prevalence in a large healthcare population. *Am J Hum Genet* 2020; 106: 734-47.
7. Brown EM. Clinical lessons from the calcium-sensing receptor. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2007; 3: 122-33.
8. Smith LM, Gallagher JC. Reference range for 24-h urine calcium, calcium/creatinine ratio, and correlations with calcium absorption and serum vitamin D metabolites in normal women. *Osteoporos Int* 2021; 32: 539-47.
9. Volpe A, Guerriero A, Marchetta A, Caramaschi P, Furlani L. Familial hypocalciuric hypercalcemia revealed by chondrocalcinosis. *Joint Bone Spine* 2009; 76: 708-10.
10. Gunganah K, Grossman A, Druce M. Recurrent pancreatitis in a patient with familial hypocalciuric hypercalcaemia treated successfully with cinacalcet. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep* 2014; 2014: 140050.
11. Sagi VS, Joshi H, Trotman J, et al. A novel CASR variant in a family with familial hypocalciuric hypercalcaemia and primary hyperparathyroidism. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep* 2020; 2020: 20-0084.
12. Bilezikian JP, Silverberg SJ, Bandeira F, et al. Management of primary hyperparathyroidism. *J Bone Miner Res* 2020; 37: 2391-403.
13. Bhangu JS, Selberherr A, Brammen L, Scheuba C, Riss P. Efficacy of calcium excretion and calcium/creatinine clearance ratio in the differential diagnosis of familial hypocalciuric hypercalcemia and primary hyperparathyroidism. *Head Neck* 2019; 41: 1372-8.
14. Steinhaus R, Proft S, Schuelke M, Cooper DN, Schwarz JM, Seelow D. Mutation taster 2021. *Nucleic Acids Res* 2021; 49: 446-51.