

Familiäre Hypokalziurische Hyperkalziämie (FHH1)
Neonataler Schwerer Hyperparathyreoidismus (NSHPT)
Autosomal Dominante Hypokalziämie (ADH)

1. Pathophysiologie und klinische Bedeutung

Alle oben angeführten Erkrankungen (FHH1, NSHPT, ADH) können durch Mutationen im **Kalzium-Sensing-Rezeptor (CaSR)** hervorgerufen werden. Der CaSR ist ein G-Protein gekoppelter Rezeptor, der hauptsächlich in den Hauptzellen der Nebenschilddrüse, in den Tubuluszellen der Niere und in den C-Zellen der Schilddrüse exprimiert wird und für die Regulation des extrazellulären Kalziumspiegels verantwortlich zeichnet. Zwischen Serumkalzium- und Parathormon-Konzentration besteht eine inverse Korrelation, indem auf eine Erhöhung des Kalziums eine Abnahme der Parathormon-Sekretion erfolgt und vice versa.

Rezente Untersuchungen zeigen, dass der CaSR, der auch in einer Vielzahl anderer Gewebe exprimiert wird, nicht nur eine Funktion im Kalziumstoffwechsel im eigentlichen Sinn hat, sondern ihm auch im Rahmen unterschiedlicher biologischer Prozesse (Proliferation, Apoptose, etc) eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Tumoren, deren Metastasierung oder bei kardiovaskulären und neurodegenerativen Erkrankungen zukommt. Der CaSR wurde 1993 von E. Brown kloniert und im identen Jahr zeigten Pollak et al., dass Mutationen dieses am Chromosom 3q21.1 lokalisierten Rezeptors sowohl zu FHH1 wie auch ADH führen können.

Die **Familiäre Hypokalziurische Hyperkalziämie 1 (FHH1; OMIM 145 980)** ist gekennzeichnet durch eine meist mild erhöhte Kalziumkonzentration (< 3.0 mmol/L) im Blut, eine Hypokalziurie, eine normale bis leicht erhöhte Parathormon (PTH)-Konzentration und manchmal eine milde Hypermagnesiämie. Verursacht wird diese autosomal dominant vererbte Störung des Kalzium-Stoffwechsels durch heterozygote inaktivierende Mutationen im Kalzium-Sensing-Rezeptor (CaSR).

Die **Familiären Hypokalziurischen Hyperkalziämien des Typs 2 und des Typs 3 (FHH2; OMIM 145 981, FHH3; OMIM 600 740)** sind von der FHH1 biochemisch und klinisch schwer differenzierbar, werden allerdings durch heterozygote Mutationen im GNA11- (FHH2) bzw. im AP2S1-Gen (FHH3), beide am Chromosom 19 lokalisiert, hervorgerufen.

Neonataler Schwerer Hyperparathyreoidismus (NSHPT; OMIM 239 200) wird zumeist durch homozygote bzw. compound heterozygote inaktivierende CaSR-Mutationen hervorgerufen (autosomal rezessiver Erbgang) und muss aufgrund einer lebensbedrohenden Hyperkalziämie innerhalb der ersten Lebensstage umgehend mittels einer totalen Parathyreoidektomie behandelt werden.

Bei der **Autosomal Dominanten Hypokalziämie (ADH; OMIM 146 200)**, die durch heterozygote aktivierende (gain of function) CaSR-Mutationen hervorgerufen wird, ist die Kalziumkonzentration im Blut erniedrigt (liegen zwischen 1.5-2 mmol/L), während sich die PTH-Konzentrationen im Normbereich befinden.

2. Symptomatik und Diagnostik

FHH1 PatientInnen weisen von Geburt an eine milde Hyperkalziämie auf. Einzelne PatientInnen leiden an Chondrokalzinose, Gallensteinen oder Pankreatitis, während der

Großteil häufig lange Zeit keine oder nur sehr milde klinische Symptome (Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Gelenksbeschwerden) aufweist, sodass die Erkrankung oft erst im Rahmen anderer Untersuchungen durch routinemäßige Kalziumbestimmungen „biochemisch“ diagnostiziert wird. Die PTH-Spiegel sind inadäquat normal, bei ca. 10-20% der Patienten sogar erhöht. Charakteristisch für eine FHH1 ist bei einem Großteil der PatientInnen auch eine erniedrigte (<0.01) Ca^{++} /Kreatinin-Clearance-Ratio, die eine Sensitivität für die FHH von 85%, eine Spezifität von 88% bzw. einen positiven prädiktiven Wert von 85% aufweist und als Screening Test verwendet wird.

NSHPT imponiert bereits in den ersten Lebensstagen durch stark erhöhte Serum-Kalziumspiegel ($> 3,5$ mmol/L) und ein ebenfalls stark (5-10fach) erhöhtes Parathormon. Weiters leiden die Kinder unter Atemnot (Thoraxdeformation), Muskelhypotonie, mangelhafter Mineralisation der Knochen und daraus folgend an schweren Deformierungen der Knochen und multiplen Knochenbrüchen. Eine intensivierte Therapie bzw. eine totale Parathyreoidektomie ist daher unvermeidbar.

ADH: Klinisches Erscheinungsbild und Erkrankungsalter sind abhängig vom Ausmaß der Hypokalzämie sehr unterschiedlich. Während viele PatientInnen aufgrund ihrer klinischen Symptomfreiheit oft zufällig diagnostiziert werden, gibt es auch PatientInnen, die gelegentlich unter Krämpfen, Asthenie oder Parästhesien leiden, oder mit schwer zu kontrollierenden, rezidivierenden Krampfanfällen. Die PTH-Serumwerte sind üblicherweise im niedrigen Normalbereich. Häufig beobachtet wird auch eine Hyperphosphatämie, Hypomagnesiämie und Hypermagnesiurie.

Fälle von AD-Hypokalzämie mit den klassischen Merkmalen des Barter-Syndroms werden als **Barter-Syndrom Typ 5** bezeichnet. Die Prävalenz ist unbekannt, jedoch ist die Erkrankung wahrscheinlich unterdiagnostiziert, da die Hypokalzämie symptomfrei bleiben kann.

3. Genetische Diagnostik

3.1. Vererbung und Häufigkeit

Der FHH1 (OMIM 145980), die autosomal dominant vererbt wird, liegen inaktivierende (loss of function) Keimbahn-Mutationen (pathogene Varianten) des Kalziumsensing-Rezeptors (CaSR) zugrunde, wobei die Penetranz bei 100% liegt. Die Erfahrung zeigt, dass CaSR-Mutationen in ca 1-7% der PatientInnen mit der Zuweisungsdiagnose Primärer Hyperparathyreoidismus detektiert werden, ebenso wie in ca 20% der PatientInnen, bei denen nach Parathyreoidektomie ein Rezidiv auftritt. Pathogene CaSR-Varianten sind in ca 65% der Familien mit FHH und in 10% der Familien mit FIH (familiärem isoliertem Hyperparathyreoidismus) nachweisbar. Bereits wenn ein Allel von einer CaSR-Keimbahn-Mutation betroffen ist, führt dies zur Erkrankung (autosomal dominanter Erbgang).

Autosomal dominant ist auch der Erbgang bei FHH2, FHH3, ADH und Barter-Syndrom 5, während beim NSHPT meist ein autosomal rezessiver Erbgang (jedes der beiden Allele muss von einer Mutation betroffen sein, damit die Erkrankung manifest wird) vorliegt. Bei der FHH1 und NSHPT liegen inaktivierende, bei ADH und Barter-Syndrom 5 aktivierende Mutationen des CaSR vor.

Eine Übersicht über CaSR-Mutationen (pathogene Varianten), die assoziierte Erkrankung und den Vererbungsmodus findet sich in der nachfolgenden Tabelle 1:

Abnormalität/Erkrankung	Genotyp	Vererbung	Serum Ca ²⁺	Harn Ca ²⁺
Loss-of-function Mutationen				
Familiäre Hypokalziurische Hyperkalziämie (FHH)	Het	AD	↑	↓
Neonataler schwerer Hyperparathyreoidismus (NSHPT)	Homo, comp. het	AR	↑↑	⊥, ↑ oder ↓
Primärer Hyperparathyreoidismus (PHPT)	Homo oder het	AD	↑	⊥ oder ↑
Gain-of-function Mutationen				
Autosomal Dominante Hypokalziämie (ADH)	Het	AD	↓	⊥ oder ↑
Bartter Syndrom Typ V	Het	AD	↓	⊥ oder ↑
CaSR Autoantikörper				
Autoimmune Hypokalziurische Hyperkalziämie (AHH)	⊥		↑	↓
Autimmuner Hypoparathyreoidismus (AH)	⊥		↓	Unbekannt

3.2. Indikationen für eine molekulargenetische FHH1-Diagnostik

Hauptzweck des genetischen Tests ist die Differentialdiagnose zwischen FHH und primärem Hyperparathyreoidismus (Adenom der Parathyreoidea), um bei CaSR- bzw. GNA11- und AP2S1-Mutationsträgern (ca 20% der FHH Patienten ohne CaSR-Mutation haben eine AP2S1-Mutation (FHH3)) eine unnötige Operation zu vermeiden, da diese PatientInnen nicht von einer Parathyreoidektomie profitieren. In einzelnen Fällen können eine FHH1 (mit CaSR-Mutation) und ein primärer Hyperparathyreoidismus, gekennzeichnet durch ein Adenom einer Parathyreoidea, auch parallel vorkommen, sodass bei auch positivem Mutationsnachweis bei typischer Symptomatik eine Parathyreoidektomie in Erwägung gezogen werden muss.

CaSR-Genotypisierung ist indiziert bei

- IndexpatientInnen mit
 - (milder) Hyperkalziämie
 - inadäquat hohem Parathormon
 - niedriger Ca⁺⁺/Creatinin-Clearance
 - keinem Nachweis eines Nebenschilddrüsenadenoms in Ultraschall oder MIBI-Szintigraphie
 - positiver FHH-Familienanamnese
 - rezidierender Hyperkalziämie nach Parathyreoidektomie
- Verwandten 1. Grades einer Person, die eine CaSR-Mutation aufweist

3.3. Genetische Beratung und Implikationen bei genetischer FHH-Diagnostik

Bevor eine humangenetische Analyse durch eine zuständige, einschlägige FachärztIn veranlasst und im Labor durchgeführt werden kann, sind die Patienten entsprechend aufzuklären und zu beraten. Diese humangenetische Beratung muss dokumentiert werden und die PatientInnen haben der Analyse schriftlich zuzustimmen. Das Ergebnis der genetischen Analyse muss in schriftlicher Form mitgeteilt und mit einer genetischen

Beratung abgeschlossen werden. Die PatientInnen können die Durchführung der humangenetischen Analyse bzw. die Mitteilung des Ergebnisses zu jedem Zeitpunkt und ohne Angabe von Gründen widerrufen.

Nachweis einer CaSR-Mutation

- Bestätigung der klinischen Verdachtsdiagnose
- Vermeidung unnötiger Parathyreoidektomien
- Prüfen, ob Symptomatik und Mutationen in der Familie kosegregieren

Keine CaSR-Mutation nachweisbar

- Es liegt keine FHH1 vor
- Der für FHH kausale Gendefekt liegt in einem anderen Gen vor (*GNA11*- FHH2; *AP2S1*-FHH3)
- Die verwendete Analysenmethode detektiert nur bereits bekannte und/oder nicht alle Arten von Mutationen bzw. es wurden nicht alle Bereiche des Gens untersucht.
- Es liegen in der PatientInnen-DNA seltene Polymorphismen vor, die dazu führen, dass ein Allel nicht amplifiziert und daher die entsprechende Mutation nicht detektiert werden kann.

3.4. Genetischer Befund: Methodik, Inhalt, Interpretation

Standard Genanalyse ist die Sequenzanalyse der kodierenden Exons (Exon 2-7) des CaSR-Gens, wobei es sich bei den detektierten pathogenen Varianten (Mutationen) meist um sogenannte missense-Mutationen handelt, die zu einem Aminosäureaustausch führen.

Das CaSR-Gen enthält sechs kodierende Exons (Exon 2-7) und kodiert einen aus 1078 Aminosäuren bestehenden Tyrosinkinase-Rezeptor, der in neuroendokrinen Zellen exprimiert wird. Bislang wurden mehr als 60 Mutationen in den verschiedenen Exons detektiert, sodass diese Exons nach der Isolierung genomischer DNA routinemäßig mittels PCR und nachfolgender Sequenzanalyse untersucht werden. Für die Analyse benötigtes Ausgangsmaterial sind 2-5 ml peripheres EDTA- oder Zitratblut (inklusive einer Einverständniserklärung der Patientinnen).

Da die meisten PatientInnen sogenannte private Mutationen haben, dh die Mutation wurde in anderen PatientInnen noch nicht beobachtet, gibt es sehr wenige Informationen betreffend der Genotyp-/Phänotyp-Korrelation. Von einer die Erkrankung verursachenden pathogenen Variante (Mutation) ist dann auszugehen, wenn die Mutation schon früher als mit der Krankheit assoziiert beschrieben worden ist, bzw. wenn eine Kosegregation der Variante mit der Erkrankung (z.B. in der entsprechenden Familie) vorliegt. FHH1 wird autosomal dominant vererbt, sodass Kinder eines erkrankten Elternteiles die CaSR-Mutation mit 50%iger Wahrscheinlichkeit erben und dann ebenfalls „erkranken“.

Pathogene CaSR-Varianten (Mutationen) wurden auch mit anderen Erkrankungen wie chronischer Pankreatitis oder idiopathischer Epilepsie in Zusammenhang gebracht.

Inwiefern häufige benigne Varianten (Polymorphismen) wie p.Ala986Ser, p.Arg990Gly oder p.Gln1011Glu signifikant den Serum-Kalziumspiegel beeinflussen, wird in der Literatur unterschiedlich diskutiert.

Literatur

Cloning and characterization of an extracellular Ca²⁺-sensing receptor from bovine parathyroid. Brown EM, Gamba G, Riccardi D, Lombardi M, Butters R, Kifor O, et al. Nature 1993; 366 (6455) ; 575–580

Mutations in the human Ca²⁺-sensing receptor gene cause familial hypocalciuric hypercalcemia and neonatal severe hyperparathyroidism. Pollak MR, Brown EM, Chou YH, Hebert SC, Marx SJ, Steinmann B, et al. Cell, 75 (7) (1993), pp. 1297–1303



ÖSTERREICHISCHE GESELLSCHAFT FÜR ENDOKRINOLOGIE UND STOFFWECHSEL

Cardiometabolic phenotyping of patients with familial hypocalcemic hypercalcemia. Wolf P, Krššák M, Winhofer Y, Anderwald CH, Zwentler E, Just Kukurová I, Gessl A, Trattinig S, Luger A, Baumgartner-Parzer S, Krebs M. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 Sep; 99(9): E1721-6

Familiäre hypokalziurische Hyperkalziämie- aktuelle Diagnostik und Therapie. Raue F, Haag C, Schulze E, Frank-Raue K. *J Miner Stoffwechsel* 2009; 16 (2): 80-83

Mutations affecting G-protein subunit $\alpha 11$ in hypercalcemia and hypocalcemia. Nesbit MA, Hannan FM, Babinsky VN, et al. *N Engl J Med* 2013; 368: 2476–2486

Mutations in AP2S1 cause familial hypocalciuric hypercalcemia type 3. Nesbit MA, Hannan FM, Howles SA, et al. *Nat Genet* 2013; 45: 93–97

Familial hypocalciuric hypercalcemia: recognition among patients referred after unsuccessful parathyroid exploration. Marx SJ, Stock JL, Attie MF, Downs RW Jr, Gardner DG, Brown EM, Spiegel AM, Doppman JL, Brennan MF. *Ann Intern Med* 1980; 92(3): 351-6

Heterozygous inactivating CaSR mutations causing neonatal hyperparathyroidism: function, inheritance and phenotype. Glaudo M, Letz S, Quinkler M, Bogner U, Elbelt U, Strasburger CJ, et al. *Eur J Endocrinol.* 2016 Nov;175(5):421-31.

Activating mutations in the calcium-sensing receptor: genetic and clinical spectrum in 25 patients with autosomal dominant hypocalcaemia - a German survey. Raue F, Pichl J, Dörr HG, Schnabel D, Heidemann P, Hammersen G et al. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2011 Dec;75(6):760-5