



Thèse

2013

Open Access

This version of the publication is provided by the author(s) and made available in accordance with the copyright holder(s).

Efficacité du traitement par calcimimétiques dans l'hyperparathyroïdie néonatale sévère, associée à des mutations du calcium sensing receptor (CaSR)

Wilhelm-Bals, Alexandra Marina

How to cite

WILHELM-BALS, Alexandra Marina. Efficacité du traitement par calcimimétiques dans l'hyperparathyroïdie néonatale sévère, associée à des mutations du calcium sensing receptor (CaSR). Doctoral Thesis, 2013. doi: 10.13097/archive-ouverte/unige:39336

This publication URL: <https://archive-ouverte.unige.ch/unige:39336>

Publication DOI: [10.13097/archive-ouverte/unige:39336](https://doi.org/10.13097/archive-ouverte/unige:39336)

Section de *médecine Clinique*,
Département : Pédiatrie
Service : Néphrologie Pédiatrique

Thèse préparée sous la direction du Professeur Eric Girardin et de la
Dresse Paloma Parvex.

**" Efficacité du traitement par calcimimétiques
dans l'hyperparathyroïdie néonatale sévère,
associée à des mutations du calcium sensing
receptor (CaSR) "**

Thèse
présentée à la Faculté de Médecine
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur en médecine
par

Alexandra WILHELM-BALS

De

Cologne, Zurich

Thèse n° _____

Genève
2013

Table des Matières :

Résumé (150mots).....2

Première Partie :

Background.....3

a. Introduction.....3

b. Hyperparathyroïdie primaire de l'enfant.....4

c. Hyperparathyroïdie néonatale sévère (NPHT).....4

d. Le CaSR connaissances actuelles.....5-7

 Physiologie du CaSR.....7

 Anomalies du CaSR, mutations.....8

 Autres fonctions du CaSR.....9

e. Prise en charge de l'hyperparathyroïdie néonatale sévère.....10

f. Proposition du travail et intérêt.....11

2^{ème} Partie :

Article.....12-27

Discussion.....28-30

Conclusion.....30

Bibliographie.....31

Annexes :

1. Page de garde de la thèse

2. Résumé de la thèse

3. Rapport de la thèse

4. Article version publiée

Résumé de 150 mots:

L'hyperparathyroïdie néonatale sévère (NPHT) est associée à des mutations homozygotes inactivatrices du récepteur du calcium (CaSR). Le CaSR est exprimé majoritairement dans les glandes parathyroïdes et les reins où il régule l'homéostasie du calcium en modulant la sécrétion de PTH et la réabsorption rénale du calcium.

L'NPHT se présente avec une hypercalcémie sévère mettant en jeu le pronostic vital.

La chirurgie est le traitement de choix. Les bisphosphonates offrent une bonne alternative dans le contrôle de l'hypercalcémie.

Les calcimimétiques de classe II (cinacalcet) augmentent l'affinité du CaSR pour le calcium conduisant à une suppression de la PTH et à l'augmentation de l'excrétion rénale du calcium.

À l'heure actuelle, il existe peu d'information sur l'efficacité du cinacalcet sur le récepteur muté dans l'NPHT et c'est ce que ce travail se propose de discuter.

À notre connaissance, c'est la première fois que le cinacalcet est utilisé dans cette indication.

Première Partie :

Background :

L'hyperparathyroïdie néonatale sévère est une pathologie extrêmement rare du nouveau-né associée à des mutations du « calcium sensing receptor » (CaSR).

Le CaSR est un récepteur cellulaire transmembranaire du calcium identifié en 1993 et dont le rôle dans l'homéostasie du calcium et dans l'organisme en général est de mieux en mieux décrit. L'avènement de nouvelles molécules comme les calcimimétiques ont permis de mieux apprécier le fonctionnement du CaSR.

A l'heure actuelle, l'utilisation des calcimimétiques se limite à des situations bien circonscrites mais le spectre de leur possibilité d'action reste encore à déterminer.

Ce travail rapporte, un cas d'NPHT traité avec succès par bisphosphonates et calcimimétiques après échec de la chirurgie.

a. Introduction :

La découverte du « calcium sensing receptor » a permis de préciser l'étiologie de l'hyperparathyroïdie néonatale sévère et l'hypercalcémie familiale hypocalciurique (FHH). L'hyperparathyroïdie néonatale sévère est associée à des mutations inactivatrices du CaSR. C'est une pathologie à présentation néonatale dont le pronostic est réservé. Toutefois si le mécanisme étiologique est maintenant mieux maîtrisé la thérapeutique n'a pas changé et la chirurgie reste le seul traitement curatif reconnu.

La première partie de ce travail se concentre sur les connaissances actuelles sur le CaSR dans la situation bien particulière de l'NPHT et les possibilités de traitement. La deuxième partie du travail est composée par la publication d'un cas de NPHT, chez lequel le diagnostic a été posé par la mise en évidence d'une nouvelle mutation inactivatrice homozygote. Ce cas a fait l'objet d'une prise en charge particulière avec l'utilisation de bisphosphonates au long court et l'utilisation pour la première fois des calcimimétiques dans cette indication et c'est ce que l'article se propose de discuter.

b. Hyperparathyroïdie primaire de l'enfant :

L'hyperparathyroïdie primaire de l'enfant est rare et son incidence est difficile à estimer[1].

L'hyperparathyroïdie primaire est caractérisée par une sécrétion inadéquate de parathormone (PTH) en présence d'une hypercalcémie.

Parmi les différentes présentations on distingue classiquement :

- 1) L'hyperparathyroïdie primaire de l'enfant ou plus fréquemment du jeune adolescent qui est généralement le résultat d'un adénome ou d'une hyperplasie de la parathyroïde et qui peut dans de rares occasions faire partie d'un syndrome MEN : « multiple endocrine neoplasia ».

Cliniquement, on retrouve des lithiases (41% des cas) avec des symptômes généraux d'hypercalcémie comme une polyurie-polydipsie (23%), une fatigue (39%), des douleurs musculaires (16%), des douleurs abdominales (25%) et des symptômes neuropsychologique comme l'anxiété ou la dépression (8%)[1].

Les examens de laboratoire révèlent **une hypercalcémie avec une hyperparathyroïdie et une hypercalciurie.**

- 2) L'hyperparathyroïdie néonatale sévère. C'est une maladie autosomique récessive dont la majorité des cas sont constitués par des mutations inactivatrices homozygote du CaSR et dont les caractéristiques cliniques sont décrites ci-dessous.

c. L'Hyperparathyroïdie néonatale sévère :

Dans la plupart des cas, la symptomatologie apparaît dans les 6 premiers mois de vie. Les nouveau-nés se présentent avec une hypercalcémie importante, symptomatique, une hypotonie, des difficultés alimentaires, une polyurie avec déshydratation ainsi que des anomalies osseuses sévères, liées à l'hyperparathyroïdie (fractures multiples, déformation thoracique)[2]. Le pronostic vital est mis en jeu et les séquelles neuro-développementales peuvent être majeures. La biochimie met en évidence une **hypercalcémie sévère**, une **hyperparathyroïdie** et contrairement à l'hyperparathyroïdie primaire de l'enfant **une hypocalciurie relative.**

L'article annexé relate le cas d'une patiente chez laquelle la symptomatologie initiale a fait fortement évoquer une NPHT. Dans son cas, l'évolution a été marquée par la non efficacité de la prise en charge chirurgicale nous obligeant à évaluer d'autres méthodes thérapeutiques.

d. Le CaSR connaissances actuelles :

CaSR et homéostasie du Calcium :

Le calcium est un des ions majeurs de l'organisme indispensable à la vie par son rôle central dans le compartiment extracellulaire comme dans le compartiment intracellulaire. Le calcium extracellulaire participe à l'intégrité membranaire et est un cofacteur majeur de nombreuses protéines, impliquées entre autres dans l'adhésion cellulaire et la coagulation. Le calcium intracellulaire joue un rôle pivot dans plusieurs mécanismes comme l'exocytose, la contraction musculaire, la propagation du potentiel d'action et sert de manière générale de second messenger dans plusieurs processus cellulaires [3].

Le CaSR est un récepteur de la super famille C II des récepteurs transmembranaires, traversant 7 fois la membrane cellulaire et couplé à une protéine G [2].

Le CaSR est constitué de 1078 acides aminés et trois domaines structuraux : un grand domaine extracellulaire, un domaine hydrophobe transmembranaire composé de sept hélices transmembranaires et un long domaine intracellulaire avec une carboxylation terminale [2]. La partie extracellulaire du récepteur est un dimère composé de deux sites de liaisons pour le calcium stabilisés par des ponts disulfides. La stimulation du récepteur par l'augmentation du calcium extracellulaire aboutit à un changement de la conformation de la partie intracellulaire terminale du récepteur et l'activation de protéines G qui vont induire l'activation de nombreux seconds messagers. Parmi ces seconds messagers on distingue la phospholipase C qui augmente la production d'inositol tris-phosphates et du diacylglycérol qui vont modifier les stocks de calcium intracellulaire et activer le système des protéines kinases. En plus de la voie du phosphoinositol, le CaSR stimule le système MAPK (mitogen activated protein kinase) impliqué dans des stimuli pro prolifératifs dans plusieurs cellules. La voie de signalisation majeure par laquelle le CaSR médie ses effets biologiques n'est pas encore déterminé avec précision [3-5].

Le CaSR joue un rôle crucial dans le maintien du calcium ionisé extracellulaire dans un intervalle souhaité par son action majoritairement sur la glande parathyroïde et sur le rein.

Dans la glande parathyroïde, l'expression du CaSR est la plus importante à la surface des cellules principales où son action régule la synthèse et la sécrétion de parathormone ainsi que la prolifération cellulaire de la glande parathyroïde.

Dans le rein, le CaSR se retrouve dans tous les segments du néphron comme démontré par hybridation in situ et son action dépend de sa localisation [2, 6]:

Dans le tubule proximal, le CaSR va inhiber l'excrétion des phosphates induite par la parathormone.

Dans l'anse de Henle, il va diminuer la sécrétion de potassium par le canal potassique apical (ROMK), inhibant ainsi l'activité du symport apical NKCC2 (réabsorption de Na⁺, K⁺, 2Cl⁻) ce qui va inhiber la réabsorption paracellulaire de calcium et de magnésium en diminuant le gradient électrique de la lumière (électropositivité) [6, 7].

Dans le tube distal, le CaSR inhibe la pompe à calcium basolatérale stimulée par la parathormone et s'oppose ainsi à la réabsorption de calcium induite par la parathormone [6, 7].

Dans le tube collecteur, le CaSR inhibe la réabsorption d'eau induite par la vasopressine.

En conclusion, le CaSR s'adapte à l'hypercalcémie en induisant une polyurie, une perte de sel de potassium et de calcium pour protéger les tissus de l'organisme contre les dépôts de calcium [6].

Tableau 1 : Fonctionnement rénal du CaSR [6, 7] :

Segment du rein :	Action du CaSR :
Tubule Proximal	Bloque la phosphaturie induite par la parathormone
Anse de Henle	Diminue la réabsorption paracellulaire de calcium et de magnésium
Tube distal	Inhibe la pompe à calcium basolatérale
Tube collecteur	Antagonise la vasopressine

Le CaSR a également été retrouvé dans l'os et l'intestin où son rôle dans l'homéostasie du calcium demeure encore incertain.

Dans l'os, le CaSR a des effets directs sur le métabolisme osseux et l'homéostasie du calcium dont l'importance est en cours d'investigation. Le CaSR est exprimé au niveau des cellules ostéoblastiques, des chondrocytes et des ostéoclastes. Lorsque le calcium ionisé est élevé, le CaSR semble favoriser la formation osseuse en activant la prolifération des ostéoblastes, leur différenciation et leur maturation ainsi que la synthèse et la minéralisation de la matrice osseuse. L'hypercalcémie stimule l'apoptose des ostéoclastes pour diminuer la résorption osseuse probablement également via le CaSR [3].

Le CaSR joue aussi un rôle au niveau du cartilage de croissance où le récepteur est impliqué dans la chondrogenèse et stimule la croissance longitudinale [8]. Comme le CaSR exerce également un effet indirect sur l'os via son action sur la parathormone, l'amplitude des effets directs du CaSR sur l'os et le cartilage de croissance est difficile à mesurer avec précision.

Finalement, le CaSR est impliqué dans la régulation des hormones impliquées dans le métabolisme phosphocalcique en régulant non seulement la parathormone mais aussi la vitamine D et la calcitonine [9]. En effet, dans la parathyroïde, le CaSR augmente l'expression du récepteur à la vitamine D potentialisant ainsi l'effet inhibiteur de la vitamine D sur la PTH. Dans le rein, le CaSR inhibe la synthèse de 1,25 OH₂D₃.

Physiologie du CaSR :

Le CaSR peut être activé par de nombreux agonistes et on distingue les agonistes de type I et les agonistes de type II [2]:

1. Les agonistes de types I sont des agonistes qui interagissent directement avec le récepteur parmi lesquels on distingue le gadolinium³⁺, le lanthanum³⁺, le calcium²⁺, le magnésium²⁺ et les aminoglycosides.

Plusieurs sites de liaisons pour le calcium sont présents sur le récepteur.

2. Les agonistes de types II qui agissent par modification allostérique de la forme du récepteur et maintiennent le récepteur en une forme activée. Ils requièrent la présence de calcium. Les agonistes de type II augmentent la sensibilité du récepteur au calcium. Dans cette classe on retrouve certains acides aminés L-aromatiques de

l'organisme, le glutathione, le PH ainsi que les médicaments calcimimétiques comme le cinacalcet.

L'affinité du calcium et des autres cations inorganiques pour le CaSR est faible, d'où l'importance des agonistes de type II pour assurer la spécificité et la puissance désirée au CaSR.

Anomalies du CaSR :

Les mutations du CaSR vont être responsables d'anomalie dans la régulation du calcium et on distingue :

Les mutations inactivatrices:

- a. **Les mutations inactivatrices hétérozygotes** responsables des hypercalcémies familiales hypocalciurique (FHH) avec une parathormone à la limite supérieure de la norme ou très légèrement augmentée, une hypercalcémie modérée et une hypocalciurie. Le phénotype peut être toutefois très variable et dépendant en partie de la mutation retrouvée.
- b. **Les mutations inactivatrices homozygotes** responsables de l'hyperparathyroïdie néonatale sévère

Les mutations activatrices :

Responsables de l'hypocalcémie autosomique dominante et du syndrome de Bartter de type V.

Les mutations décrites du CaSR sont nombreuses et listées dans une database :

<http://data.mch.mcgill.ca/casrdb/>.

Corrélation génoytype-phénotype :

La corrélation entre le génotype d'une mutation et le phénotype clinique peut être très variable d'un individu à l'autre. Ainsi certains patients FHH avec la même mutation hétérozygote peuvent être peu symptomatique et d'autres présenter une atteinte importante pouvant simuler une hyperparathyroïdie néonatale sévère. Ainsi, plusieurs facteurs semblent entrer en jeu dans l'expression du phénotype et ils sont encore mal connus [2, 10].

Polymorphisme du gène du CaSR :

Le gène du CaSR présente de nombreux polymorphismes. Il a été démontré que certains de ces polymorphismes étaient associés à des pathologies comme l'hyperparathyroïdie primaire et aussi à la sévérité des hyperparathyroïdies secondaires.

Ces polymorphismes ne semblent pas être à l'origine de la pathologie mais représentent certainement selon les cas un risque augmenté de présenter une pathologie [2, 11].

Expression du CaSR et pathogénie :

Certaines pathologies sont associées à une raréfaction des récepteurs du CaSR.

Dans l'hyperparathyroïdie primaire, par exemple, comme dans les carcinomes de la parathyroïde on a pu mettre en évidence un nombre réduit de CaSR [11]. Un nombre de CaSR réduit va contribuer à une diminution du feedback négatif sur la PTH, sans que l'on puisse dire dans les deux situations si c'est la raréfaction qui induit la pathologie ou si elle n'est qu'un phénomène secondaire amplificateur.

Autres fonctions du CaSR :

Le CaSR est également retrouvé dans de nombreux tissus non impliqués dans l'homéostasie calcique comme le cerveau, le pancréas, l'œsophage, l'estomac, le cœur, la peau, la glande pituitaire, les ovaires, le sein, les testicules et la prostate où sa fonction exacte reste encore imprécise.

De plus, un rôle du CaSR est décrit dans certains cancers (côlon, sein, prostate) où les mécanismes de fonctionnement font actuellement l'objet d'études [11].

Par exemple, le rôle du CaSR dans le cancer est dichotomique en étant selon la situation promoteur ou suppresseur de tumeurs [7, 11, 12]. Dans le côlon et la parathyroïde l'expression réduite de CaSR est associée au développement du carcinome du colon et des adénomes de la parathyroïde. Dans le cancer du sein et de la prostate, le CaSR stimule la sécrétion de PTHrP stimulant ainsi l'ostéolyse et l'hypercalcémie maligne. La résorption osseuse provoque le relargage de différents facteurs (TGF β , IGF-I...) qui agissent comme des agents chémo attractants sur les cellules tumorales et favorisent les métastases osseuses.

Finalement, de part sa capacité à activer de nombreux signaux intracellulaires autre que les protéines G, le CaSR est également impliqué dans de nombreux autres mécanismes indépendamment du calcium.

e. Prise en charge du NPHT, possibilités :

La chirurgie est le traitement de choix du NPHT et le seul traitement curatif.

Les bisphosphonates ont été utilisés par certains auteurs pour le traitement symptomatique de l'hypercalcémie dans l'attente de la chirurgie avec des résultats très satisfaisants mais seulement sur le court terme [10, 13]. Les effets au long court d'un traitement par bisphosphonates chez les enfants présentant un NPHT n'est pas connu, en particulier les effets sur la croissance des os long et l'article ci-dessous relate notre expérience avec un traitement de bisphosphonate pendant 3 ans [14, 15].

Les calcimimétiques :

Les calcimimétiques sont des agonistes de type II du CaSR. Ils modifient la forme allostérique du récepteur et augmentent ainsi son affinité pour le calcium. Contrairement au calcium qui interagit avec le domaine extracellulaire du récepteur, les calcimimétiques interagissent avec le domaine transmembranaire du récepteur [2].

Le cinacalcet est le seul calcimimétique de type II approuvé par les organismes de contrôle pharmaceutique comme la FDA (Food and drug administration), l'EMA (European medicine agency) et Swissmedic pour son utilisation dans l'hyperparathyroïdie secondaire à une insuffisance rénale et pour les carcinomes parathyroïdien non opérable. Par la suite, La FDA, l'EMA et Swissmedic ont approuvés également son utilisation dans l'hyperparathyroïdie primaire, secondaire à une hyperplasie ou un adénome lorsque la chirurgie est contre-indiquée [9].

Le cinacalcet n'est pas encore accrédité en pédiatrie. Off-label on retrouve son utilisation dans plusieurs situations amenant à une hypercalcémie comme le FHH et les hypercalcémies malignes. Le cas présenté détaille notre expérience de son utilisation dans l'NPHT sur plus de 8 ans avec une excellente tolérance et une bonne efficacité [9].

f. Proposition du travail et intérêt

L'article ci-dessous relate la prise en charge particulière d'un cas de NPHT qui nous a permis de diagnostiquer une nouvelle mutation du CaSR mais surtout d'explorer une nouvelle indication des calcimimétiques et des bisphosphonates dans le traitement à long terme des mutations du récepteur. A notre connaissance, c'est la première fois, que le cinacalcet est utilisé dans cette indication. Etant donné l'hétérogénéité des mutations du CaSR décrite il est difficile de prédire l'efficacité des calcimimétiques dans l' NPHT avec d'autres mutations mais l'évolution de notre patiente est un modèle très encourageant qui est en faveur d'essayer le cinacalcet dans l'NPHT.

Successful use of Bisphosphonate and Calcimimetic in Neonatal Severe Primary Hyperparathyroidism.

Alexandra Wilhelm-Bals¹ MD, Paloma Parvex² MD, Corinne Magdelaine³ PhD, Professor
Eric Girardin⁴ MD

¹⁻²⁻⁴ Division of Pediatric Nephrology, Department of Pediatrics, Children Hospital, Geneva, Switzerland.

³Division of Biochemical Molecular Genetics, CHU Dupuytren, Limoges, France

Alexandra Wilhelm-Bals
Division of Pediatric Nephrology
Department of Pediatrics
Children Hospital
6 rue Willy-Donzé
1206 Geneva Switzerland
Phone: +41223824603
Fax: +41223724505
Email: Alexandra.wilhelm-bals@hcuge.ch

Paloma Parvex
Division of Pediatric Nephrology
Department of Pediatrics
Children Hospital
6 rue Willy-Donzé
1206 Geneva Switzerland
Paloma.parvex@hcuge.ch

Corinne Magdelaine
Division of Biochemistry Molecular Genetics
CHU Dupuytren
2 av. Martin-Luther-King
87 032 Limoges Cedex – France
Corinne.Magdelaine@voila.fr

Eric Girardin
Division of Pediatric Nephrology
Department of Pediatrics
Children Hospital
6 rue Willy-Donzé
1206 Geneva Switzerland
Eric.girardin@hcuge.ch

Abbreviations: PTH: parathormone; NPHT: Neonatal primary hyperparathyroidism; CaSR: calcium sensing receptor

Key words: neonatal primary hyperparathyroidism, parathormone, calcium sensing receptor, calcimimetic of class II

Short Title: Calcimimetic use in Neonatal Primary Hyperparathyroidism

Abstract:

Neonatal primary hyperparathyroidism (NPHT) is associated with an inactivating homozygous mutation of the calcium sensing receptor (CaSR). The CaSR is expressed most abundantly in the parathyroid glands and the kidney and regulates calcium homeostasis through its ability to modulate PTH secretion and renal calcium reabsorption.

NPHT leads to life threatening hypercalcemia, nephrocalcinosis, bone demineralization and neurological disabilities.

Surgery is the treatment of choice. While waiting for surgery, bisphosphonates offer a good alternative in dealing with hypercalcemia.

Cinacalcet is a calcimimetic of class II that increases CaSR affinity for calcium leading to PTH suppression and increased calcium renal excretion.

At present, there is little evidence of whether cinacalcet could improve the function of mutant CaSR in NPHT.

We report a case of NPHT, treated successfully with bisphosphonates and cinacalcet after surgery failure. To our knowledge, it is the first time cinacalcet has been used for NPHT.

Introduction:

NPHT is a rare autosomal dominant disease associated with an inactivating homozygous mutation of the CaSR. NPHT appears within the first months of life with severe symptomatic hypercalcemia, polyuria, failure to thrive, hypotonia, respiratory distress, bone deformity and fractures. If untreated, NPHT can be a devastating neurodevelopmental disorder and is often fatal.¹⁻⁴

The CaSR is expressed in several tissues and acts as a “calciostat” sensing serum calcium level. In the parathyroid gland, the activation of CaSR modulates PTH synthesis and secretion.

In the kidney, CaSR is expressed in all nephron segments. Depending on the localisation, CaSR has an inhibitory effect on the reabsorption of calcium, potassium, sodium and water.⁵

CaSR receptor has been identified in other tissues, including calcitonin cells, gut, skeleton and brain where its function and physiological importance remain to be explained.³

In NPHT, surgery is the treatment of choice and is effective in most cases.⁶

As an alternative to surgery, bisphosphonates have been shown to be efficient in handling hypercalcemia.⁷⁻⁸ Cinacalcet increases CaSR affinity for calcium leading to diminished PTH secretion and increased renal calcium excretion. Little is known about the use of cinacalcet in NPHT to improve the function of mutant CaSR. We report the case of a girl diagnosed at birth with NPHT and treated successfully with bisphosphonates and cinacalcet after surgery had failed.

Case Report:

The patient presented in the first week of life with poor feeding, lethargy and apnea. The laboratory tests revealed: hypercalcemia 8.25mmol/l (reference range: 2.20-2.52mmol/l) and hyperparathyroidism 95.4pmol/l (reference range: 1.2-6.4pmol/l). The family history, pregnancy and birth were uneventful. Serum calcium and PTH levels were normal in both parents. The brother of the patient was asymptomatic, had normal blood calcium, slightly increased PTH and decreased calciuria on a urinary spot analysis. He was genetically tested and is a heterozygous carrier.

When the patient was one month old (December 1999) four parathyroid glands were removed, one of which was transplanted into the left arm (5 implants along a longitudinal line in the deltoid muscle).

The histological exam confirmed primary hyperparathyroidism (PHT) caused by chief cell hyperplasia.

Postoperatively, PTH and calcium levels remained high (30pmol/l and 6mmol/l). The left arm implant was removed, but the patient continued to have abnormal values. Between January 2001 and February 2002, sestamibi technetium 99m scanning, MRI and venous sampling of PTH showed suspected focus of residual PTH secretion in the anterior mediastinum and on both arms (figure1). The patient underwent six interventions which were unable to detect the residual parathyroid tissue. The hypothesis retained to explain the persistence of hyperparathyroidism was a miliary spread of the parathyroid cells.

At that time, under hyperhydratation regimen, but with a normal calcium diet laboratory results were as follows: calcium 5mmol/l, PTH 25-30pmol/l, phosphate 0.7mmol/l (reference

range: 1.20-1.9mmol/l), 25-OH-cholecalciferol 50nmol/l (reference range: 20-90nmol/l), urinary calcium/creatinine ratio 0.1 (reference range: <0.7). Bone turn-over markers: urinary molar fraction dpyridinolines/creatinine 382.3 (reference range: 8-20.2), serum osteocalcin: 108ug/l (reference range for gender and age: 48-79ug/l), alkaline phosphatase 490 U/l (reference range 120-360 U/l).⁹ The creatinine clearance (April 2001) was 100ml/minx1.73m². The renal ultrasound (December 2000) showed nephrocalcinosis. The bone mineral density (BMD) of the spine L2-4 (dual-energy x-ray absorptiometry, DXA realized on Hologic QDR-4500A s/n 45278) showed a low Z score adjusted for gender and age (-2.2).

The child did not present with fractures or bone deformity on physical exam. The staturponderal growth was on the -2 SD for weight and height and the patient developed psychomotor retardation mainly for the motor acquisitions.

At the age of two years, a treatment with bisphosphonates was initiated. The patient benefited from pamidronate infusion (1mg/kg/day during 3 days), every four months between December 2001 and November 2005. Supplementation with vitamin D (cholecalciferol 400 UI/day) and sodium phosphate (1mmol/kg/day) was also initiated.

Calcium decreased to 3mmol/l, PTH decreased to 10pmol/l. The other laboratory values changed as follows: phosphate 0.9mmol/l, 25-OH-cholecalciferol 102nmol/l, urinary calcium/creatinine ratio 0.1. Bone turn-over markers: urinary molar fraction dpyridinolines/créatinine 71, serum osteocalcin: 51ug/l (reference range for gender and age: 65-96ug/l), alkaline phosphatase 230 U/l. The BMD of the spine L2-4 (November 2004) showed an improved Z score at 1.3. Finally, nephrocalcinosis on the renal ultrasound decreased.

The patient did much better and we observed an improvement of psychomotor delay and staturponderal growth (-1 SD).

At the age of 6 years (May 2006), a trial with cinacalcet was started with a first dose of 30 mg which was increased to 90 mg and 60 mg a day on alternating days (July 2006). With this treatment, calcium level decreased to 2.6mmol/l and PTH lowered to 5pmol/l (Figure 2). The other laboratory results changed as follows: phosphate 1.14mmol/l, 25-OH-cholecalciferol 76nmol/, urinary calcium/creatinine ratio 0.2, bone turn-over markers: serum osteocalcin 80ug/l (reference range for gender and age 65-96ug/l), alkaline phosphatase 214U/l. Under cinacalcet, the patient growth continued to follow the -1 SD and no other secondary effects were observed. In 2010, calcium increased to 2.8mmol/l and PTH to 5.5mmol/l and we further increased cinacalcet to 90 mg/d with a good result as calcium decreased to 2.6mmol/l and PTH to 4.6pmol/l.

Genetic results:

These exams were done at the university hospital of Limoges by Pr. F. Sturtz and Dr. C. Magdelaine.

The molecular biology demonstrated a homozygous mutation in the third exon of the CasR gene. This mutation (c.206G>A) has never been described before and is characterised by the replacement of an arginine by a histidine in position 69 in the extracellular domain of the protein. Each parent carries the mutation in a heterozygous state.

In vitro activity of the mutation is currently being tested.

Discussion:

Whereas surgery is currently the only curative treatment for NPHT, the patient had residual parathyroid tissue. As an alternative, we started treatment with bisphosphonates. Under bisphosphonates, as expected, we observed an improvement of calcium level. The BMD normalized and the bone turnover markers improved. The statural growth increased and the patient improved her psychomotor skills. We also noticed an unexpected diminution of PTH from 20pmol/l to 10pmol/l which was not completely understood. Usually, bisphosphonates induce a fall in blood calcemia and a further increase in PTH. This unexpected fall in the level of PTH might be the result of a natural evolution of the disease.⁷ It might also be the result of a different bone metabolism under treatment but the mechanism remains unclear. CaSR is expressed in the bone, but no link between bone CaSR and parathyroid gland regulation has been described. FGF 23 is also secreted in the bone and is known to decrease PTH secretion but recent articles showed that pamidronate induces a fall in FGF 23 secretion.¹⁰ Interestingly, another case of NPHT described by Waller et al⁷, treated with pamidronate showed a similar fall in PTH but a rebound two months later. In this case however, only one dose of pamidronate was given.

Our patient stayed more than 3 years under bisphosphonates and we did not notice any secondary effects. In particular, growth improved and long bones X-rays were normal apart from the bisphosphonates induced transverse sclerotic lines, but no changes suggestive of osteopetrosis.

Because adverse effects from long term treatment with bisphosphonates are largely unknown, we decided to stop the bisphosphonates treatment and initiate cinacalcet therapy.¹¹

The half life of bisphosphonates in the skeleton is long as it is incorporated in the bone and released during bone remodelling. It has been demonstrated that the effect of bisphosphonates on bone density, can be sustained for 26+/-2 months after their discontinuation in children.¹² In our case, cinacalcet was started shortly after bisphosphonates discontinuation and the initial results observed on hypercalcemia may be, in part, due to the remaining effects of the bisphosphonates therapy.

Cinacalcet was started at 30 mg/day (1.4 mg/kg/day) and increased to 3.5 mg/kg/day while monitoring the impact on PTH and calcium level as no standard therapy was available for this condition.

Under therapy with cinacalcet, we observed normalization of PTH and phosphate and a near normalization of calcium suggesting a positive effect of the calcimimetic on the mutant CaSR in the parathyroid gland.

At the kidney level the activation of CaSR leads to an increase in calcium excretion directly through a diminished paracellular passive reabsorption in the thick ascending loop of Henle and indirectly through a diminution of PTH. In our patient calciuria did not increase after the initiation of treatment and stayed low compared to the value of serum calcium.

In the bone, CaSR is present in the osteoblasts and in the growth plate. Both in vitro and in vivo data indicates a role of CaSR in osteoblasts and osteoclasts recruitment, differentiation and survival. In mice experiments, tissue specific deletion of CaSR in osteoblasts resulted in profound bone defects, whereas CaSR deletion in chondrocytes resulted in delayed growth plate development.¹³⁻¹⁴

Calcimimetic exerts an indirect effect on bone via modulation of PTH. Direct effects of calcimimetic targeting bone CaSR is hard to predict. In our patient, we did not observe any adverse effect of the treatment on bone metabolism. On the contrary, bone turn over markers stayed in the normal range for age and gender and growth followed the same percentile (-1SD). A bone age, according to Greulich and Pyle was done both while receiving bisphosphonates and later cinacalcet. It showed a delay of one year between chronological and bone age which was not modified by the introduction of cinacalcet.

On follow up, six years after the bisphosphonates were discontinued, calcium and PTH are stable under cinacalcet alone. When cinacalcet was introduced, the patient felt much better without any adverse secondary effect at six years of follow up. In 2010, calcium increased to 2.8mmol/l and PTH to 5.5pmol/l and we decided to further increase cinacalcet to 90mg each day with a good response as calcium decreased to 2.6mmol/l and PTH decreased to 4.6pmol/l. Even though, a natural amelioration of the severity of the disease was possible we were not willing to try a drug holiday.

Currently, little is known about the use of calcimimetic in NPHT. Rus et al.¹⁵ characterized in vitro seven mutations of the CasR in familial benign hypocalciuric hypercalcemic (FHH) patients. They showed that NPS R-568, an analogue of cinacalcet, improves the signal of the mutant CasR in 4 cases on 7. A case report, recently published also describes a normalisation of PTH and calcium under cinacalcet in a child with FHH.¹⁶

In our patient, a mutation was found in the extracellular domain with the replacement of an arginine by a histidine. This mutation should not change the chemical characteristics of the region (electrical charge, hydrophobicity) but it could modify the steric shape of the extracellular domain, leading to calcium-binding difficulties.

In this mutation, cinacalcet seemed to be successful and was able to normalize PTH and calcium serum levels. More than 200 mutations of the CaSR are described in NPHT and it is difficult to predict which ones will respond to cinacalcet therapy. However, it seems reasonable and worth trying as an alternative to surgery or while waiting for surgery.

References:

1. Brown EM, MacLeod RJ. Extracellular calcium sensing and extracellular calcium signaling. *Physiol Rev.* 2001;81(1):239-297.
2. Egbuna OI, Brown EM. Hypercalcaemic and hypocalcaemic conditions due to calcium-sensing receptor mutations. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2008;22(1):129-148.
3. Quarles LD. Extracellular calcium-sensing receptors in the parathyroid gland, kidney, and other tissues. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2003;12(4):349-355.
4. Hendy GN, D'Souza-Li L, Yang B, Canaff L, Cole DE. Mutations of the calcium-sensing receptor (CASR) in familial hypocalciuric hypercalcemia, neonatal severe hyperparathyroidism, and autosomal dominant hypocalcemia. *Hum Mutat.* 2000;16(4):281-296.
5. Vezzoli G, Soldati L, Gambaro G. Roles of calcium-sensing receptor (CaSR) in renal mineral ion transport. *Curr Pharm Biotechnol.* 2009;10(3):302-310.
6. Mallet E. Primary hyperparathyroidism in neonates and childhood. The French experience (1984-2004). *Horm Res.* 2008;69(3):180-188.
7. Waller S, Kurzawinski T, Spitz L, et al. Neonatal severe hyperparathyroidism: genotype/phenotype correlation and the use of pamidronate as rescue therapy. *Eur J Pediatr.* 2004;163(10):589-594.
8. Fox L, Sadowsky J, Pringle KP, et al. Neonatal hyperparathyroidism and pamidronate therapy in an extremely premature infant. *Pediatrics.* 2007;120(5):e1350-1354.
9. Yang L, Grey V. Pediatric reference intervals for bone markers. *Clin Biochem.* 2006;39(6):561-568.
10. Kitaoka T, Namba N, Miura K, et al. Decrease in serum FGF23 levels after intravenous infusion of pamidronate in patients with osteogenesis imperfecta. *J Bone Miner Metab* 2011;29(5):598-605.
11. Whyte MP, Wenkert D, Clements KL, McAlister WH, Mumm S. Bisphosphonate-induced osteopetrosis. *N Engl J Med.* 2003;349(5):457-463.
12. Waterhouse KM, Auron A, Srivastava T, Haney C, Alon US. Sustained beneficial effect of intravenous bisphosphonates after their discontinuation in children. *Pediatr Nephrol.* 2007;22(2):282-287.
13. Chang W, Tu C, Chen TH, Bikle D, Shoback D. The extracellular calcium-sensing receptor (CaSR) is a critical modulator of skeletal development. *Sci Signal.* 2008;1(35):ra1.

14. Richard C, Huo R, Samadfam et al. The calcium-sensing receptor and 25-hydroxyvitamin D-1alpha-hydroxylase interact to modulate skeletal growth and bone turnover. *J Bone Miner Res.* 2010;25(7):1627-1636.
15. Rus R, Haag C, Bumke-Vogt C et al. Novel inactivating mutations of the calcium-sensing receptor: the calcimimetic NPS R-568 improves signal transduction of mutant receptors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(12):4797-4803.
16. Alon US, VandeVoorde RG. Beneficial effect of cinacalcet in a child with familial hypocalciuric hypercalcemia. *Pediatr Nephrol.* 2010;25(9):1747-1750.

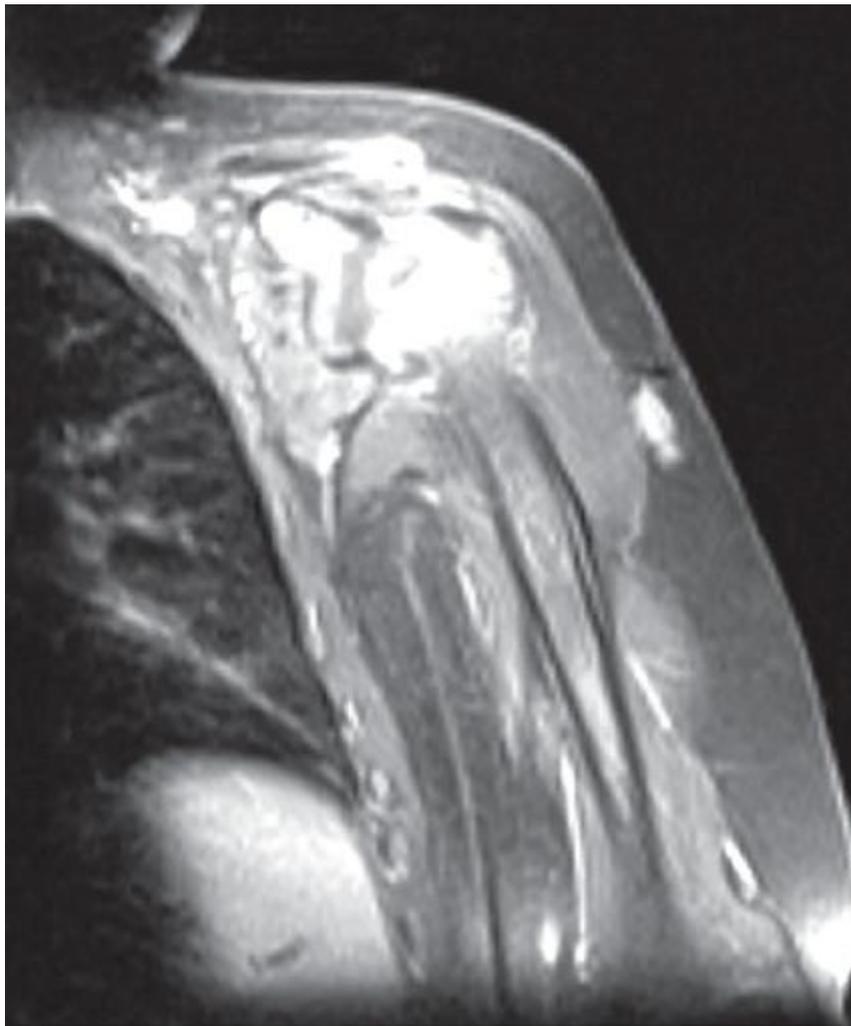


Figure 1

Figure Legends:

Figure 1:

MRI (FAT SAT T1 + gadolinium April 2001) of the left arm showing (arrow) a suspected focus of residual parathyroid tissue.

Figure 2:

1. Diminution of calcium and PTH after surgery.
2. Diminution of calcium and PTH under bisphosphonates therapy.
3. Normalisation of calcium and PTH under cinacalcet therapy. Arrow A: cinacalcet 30 mg/d, arrow B: cinacalcet 60 mg/d and 90 mg/d on alternate days, arrow C: cinacalcet 90 mg/d.

Calcium reference range: 2.20-2.52mmol/l, PTH reference range: 1.2-6.4pmol/l

Discussion :

Bien que la chirurgie soit le seul traitement curatif du NHPT, notre cas illustre que la connaissance approfondie des mécanismes physiopathologiques permet d'essayer d'autres alternatives thérapeutiques.

Dans un premier temps, les bisphosphonates ont permis de presque normaliser le calcium, et les marqueurs du turnover osseux. Après introduction des bisphosphonates, on a noté également une importante diminution de la PTH (20pmol/l à 10pmol/l) qui s'explique mal d'un point de vue physiopathologique. En effet, la diminution de la calcémie devrait s'accompagner d'une augmentation de la PTH ou alors d'une PTH qui reste stable. En parallèle à l'introduction des bisphosphonates, un traitement par vitamine D a été initié et la vitamine D est passée de 50nmol/l à 102nmol/l. Cette augmentation de valeur, qui reste dans la norme, ne nous semble pas pouvoir expliquer la diminution drastique de la PTH. A noter toutefois, un autre cas de nouveau-né, diagnostiqué avec une NPHT, décrit par Waller et al[10], qui a présenté aussi une diminution transitoire de PTH après une dose unique de pamidronate. Le CaSR est exprimé dans l'os mais jusqu'à présent aucun lien entre le CaSR osseux et la régulation de la PTH n'a été décrit. Une évolution spontanément favorable de la maladie n'est pas exclue mais est peu probable.

Dans les cas de NPHT rapportés dans la littérature, l'utilisation des bisphosphonates est décrite sur le court terme et dans l'attente de la chirurgie. Notre patiente a bénéficié de manière exceptionnelle d'un traitement à long terme faute d'autres thérapeutiques disponibles dans son cas. Après 3 ans de traitement par bisphosphonates, aucun effet secondaire n'a été observé. Au contraire, la minéralométrie s'est améliorée sans signe d'ostéopétrose. La croissance a repris selon la taille cible de la patiente et elle a également rattrapé en partie son retard psychomoteur.

Lorsque le cinacalcet a été introduit, l'effet a été très rapide avec une normalisation immédiate des taux de calcium et de PTH sanguin dès lors que dose adéquate a été trouvée, suggérant un effet positif du calcimimétique sur le CaSR muté. Depuis, la calcémie et la PTH sont restés stables sous traitement de cinacalcet uniquement. Une évolution spontanément favorable de la maladie avec le temps reste possible. Toutefois, en 2010 après 5 ans de cinacalcet, la calcémie a augmenté à 2.8mmol/l et la PTH légèrement à

5.5pmol/l. Le cinacalcet a alors été augmenté à la dose de 90mg/j avec une bonne évolution de la calcémie et de la PTH. Au suivi, à 8 ans après l'arrêt des bisphosphonates, la calcémie et la PTH sont stable sous traitement de cinacalcet.

Le CaSR est un récepteur systémique impliqué dans de nombreuses réactions dans l'organisme. L'effet du cinacalcet est difficile à monitorer dans les autres organes où le CaSR est retrouvé. Au niveau rénal la calciurie n'a pas été augmentée par l'introduction du cinacalcet et est restée basse malgré une calcémie à la limite supérieure de la norme. Ce résultat laisse à penser que la régulation de la calcémie par le CaSR est plus importante via la PTH que via l'excrétion rénale de calcium. Une autre possibilité serait que le cinacalcet ait moins d'effet sur le CaSR rénal.

Dans l'os, le CaSR est présent dans les ostéoblastes et dans le cartilage de croissance. Chez la souris, la délétion du CaSR spécifiquement dans les ostéoblastes et les chondrocytes aboutit à d'importants défaut osseux et d'important retard de croissance [16, 17]. Les calcimimétiques exercent un effet indirect sur l'os par modulation de la PTH. Les effets directs du cinacalcet sur le CaSR osseux sont difficiles à prédire et à mesurer. Chez notre patiente en tous les cas, aucun effet secondaire sur le métabolisme osseux n'a été observé. Sous ce traitement, les marqueurs osseux sont restés dans la norme pour l'âge et le sexe.

A l'heure actuelle, peu de choses sont décrites sur l'utilisation des calcimimétiques dans les cas de NPHT. Plusieurs études in vitro, utilisant le calcimimétique NPS R-568 ont montrés que les calcimimétiques pouvaient restaurer le signal dans certaines mutations du CaSR touchant le domaine extracellulaire et également dans certaines mutations touchant le domaine intracellulaire[18, 19]. Dans l'étude de Rus et al[19], les deux mutations transmembranaires n'ont pas répondu. Ainsi, selon le site de la mutation on peut s'imaginer que la capacité à répondre au calcimimétique puisse être conservée même si la réponse directe à l'agoniste de type I est atteinte. Dans notre cas, une mutation a été mise en évidence dans la partie extracellulaire du récepteur. Cette mutation n'est pas encore répertoriée dans la database des mutations du CaSR. Elle ne modifie pas les caractéristiques chimiques de la région (charge électrique-hydrophobicité) mais il est possible que cette mutation modifie la forme allostérique du récepteur altérant probablement la liaison entre le calcium et le récepteur. Le site de liaison transmembranaire avec les calcimimétiques étant préservé, le cinacalcet a pu être efficace. Il est vraisemblable que d'autres types de

mutations, surtout celles touchant le domaine transmembranaire du récepteur ne répondent pas aussi bien et il est difficile de prédire dans quels cas le cinacalcet aura un effet.

Chez notre patiente, l'utilisation du cinacalcet semble avoir permis de restaurer la fonction du récepteur muté dans l'homéostasie du calcium sans autres effets secondaires observés au niveau des autres systèmes où le récepteur est impliqué. On rapporte également une excellente tolérance sur le long cours sans phénomène d'accoutumance.

Conclusion :

L'utilisation des calcimimétiques dans l' NPHT n'est pas décrite. Chez l'adulte certains cas de FHH ont été traités avec succès par calcimimétiques de manière intermittente.

Notre cas illustre que la connaissance approfondie de la pathogénèse d'une maladie ainsi que la pharmacocinétique de médicaments potentiels, permet d'envisager des traitements hautement spécifiques « off label » avec succès dans des maladies orphelines pour lesquelles l'investigation et l'accréditation de nouvelles thérapeutiques font défaut.

Dans le futur, sur un modèle conceptuel il est probable que l'utilisation des traitements par calcimimétiques et calcilytiques pour moduler l'activité du CaSR pourra être élargie à d'autres indications, associées au métabolisme du calcium ou non.

Toutefois étant donné le spectre d'action systémique des modulateurs du CaSR, leurs utilisations dans les néoplasies et les pathologies non associées au métabolisme calcique semble plus difficile et reste à explorer.

Bibliographie :

1. Mallet, 2008.
2. Egbuna, O.I. and E.M. Brown, *Hypercalcaemic and hypocalcaemic conditions due to calcium-sensing receptor mutations*. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2008. **22**(1): p. 129-48.
3. Brown, E.M., *Role of the calcium-sensing receptor in extracellular calcium homeostasis*. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2013. **27**(3): p. 333-43.
4. Brennan, S.C., et al., *Calcium sensing receptor signalling in physiology and cancer*. Biochim Biophys Acta, 2013. **1833**(7): p. 1732-44.
5. Breitwieser, G.E., *Minireview: the intimate link between calcium sensing receptor trafficking and signaling: implications for disorders of calcium homeostasis*. Mol Endocrinol, 2012. **26**(9): p. 1482-95.
6. Vezzoli, G., L. Soldati, and G. Gambaro, *Roles of calcium-sensing receptor (CaSR) in renal mineral ion transport*. Curr Pharm Biotechnol, 2009. **10**(3): p. 302-10.
7. Riccardi, D. and P.J. Kemp, *The calcium-sensing receptor beyond extracellular calcium homeostasis: conception, development, adult physiology, and disease*. Annu Rev Physiol, 2012. **74**: p. 271-97.
8. Wu, S., et al., *Effects of Ca²⁺ sensing receptor activation in the growth plate*. FASEB J, 2004. **18**(1): p. 143-5.
9. Brown, E.M., *Clinical utility of calcimimetics targeting the extracellular calcium-sensing receptor (CaSR)*. Biochem Pharmacol, 2010. **80**(3): p. 297-307.
10. Waller, S., et al., *Neonatal severe hyperparathyroidism: genotype/phenotype correlation and the use of pamidronate as rescue therapy*. Eur J Pediatr, 2004. **163**(10): p. 589-94.
11. Ward, B.K., et al., *The role of the calcium-sensing receptor in human disease*. Clin Biochem, 2012. **45**(12): p. 943-53.
12. Saidak, Z., R. Mentaverri, and E.M. Brown, *The role of the calcium-sensing receptor in the development and progression of cancer*. Endocr Rev, 2009. **30**(2): p. 178-95.
13. Fox, L., et al., *Neonatal hyperparathyroidism and pamidronate therapy in an extremely premature infant*. Pediatrics, 2007. **120**(5): p. e1350-4.
14. Whyte, M.P., et al., *Bisphosphonate-induced osteopetrosis*. N Engl J Med, 2003. **349**(5): p. 457-63.
15. Waterhouse, K.M., et al., *Sustained beneficial effect of intravenous bisphosphonates after their discontinuation in children*. Pediatr Nephrol, 2007. **22**(2): p. 282-7.
16. Chang, W., et al., *The extracellular calcium-sensing receptor (CaSR) is a critical modulator of skeletal development*. Sci Signal, 2008. **1**(35): p. ra1.
17. Richard, C., et al., *The calcium-sensing receptor and 25-hydroxyvitamin D-1alpha-hydroxylase interact to modulate skeletal growth and bone turnover*. J Bone Miner Res, 2010. **25**(7): p. 1627-36.
18. Lu, J.Y., et al., *Effect of the calcimimetic R-568 [3-(2-chlorophenyl)-N-((1R)-1-(3-methoxyphenyl)ethyl)-1-propanamine] on correcting inactivating mutations in the human calcium-sensing receptor*. J Pharmacol Exp Ther, 2009. **331**(3): p. 775-86.
19. Rus, R., et al., *Novel inactivating mutations of the calcium-sensing receptor: the calcimimetic NPS R-568 improves signal transduction of mutant receptors*. J Clin Endocrinol Metab, 2008. **93**(12): p. 4797-803.

