

Raquitismo dependente de vitamina D: tipo 1: série de casos de dois irmãos com mutação CYP27B1 e revisão da literatura

Vitamin D-dependent rickets (VDDR) type 1: case series of two siblings with a CYP27B1 mutation and review of the literature

AutoresRachita Singh Dhull¹Reena Jain¹Bobbity Deepthi¹Hae Il Cheong^{2,3}Abhijeet Saha¹ Mohit Mehndiratta⁴Srikanta Basu¹

¹Lady Hardinge Medical College and associated Kalawati Saran Children Hospital, Department of Pediatrics, Division of Pediatric Nephrology, New Delhi, India.

²Seoul National University Children's Hospital, Department of Pediatrics, Seoul, Korea.

³Seoul National University College of Medicine, Kidney Research Institute, Medical Research Centre, Seoul, Korea.

⁴University College of Medical Sciences, Department of Biochemistry, New Delhi, India.

Data de submissão: 09/05/2020.

Data de aprovação: 24/06/2020.

Correspondência para:

Abhijeet Saha.

E-mail: drabhijeetsaha@yahoo.com

DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2020-0001>**RESUMO**

Dois irmãos apresentaram características clínicas e bioquímicas do raquitismo, com suspeita clínica inicial de raquitismo hipofosfatêmico. Não houve melhora no início, portanto os irmãos foram reavaliados e, posteriormente, diagnosticados com raquitismo dependente de vitamina D (VDDR) tipo 1 devido a uma rara mutação no gene CYP27B1, que codifica a enzima 1 α -hidroxilase. Ambos os irmãos melhoraram com a suplementação de calcitriol. A apresentação inicial do VDDR geralmente é confusa e a avaliação algorítmica ajuda no diagnóstico. Também apresentamos uma breve revisão da literatura, incluindo genética.

Descritor: Raquitismo Hipofosfatêmico Familiar; Crianças; 25-Hidroxivitamina D3 1- α -Hidroxilase; Mutagênese Insercional.

ABSTRACT

Two siblings presented with clinical and biochemical features of rickets, initially suspected as hypophosphatemic rickets. There was no improvement initially, hence the siblings were reinvestigated and later diagnosed as having vitamin D-dependent rickets (VDDR) type 1 due to a rare mutation in the CYP27B1 gene encoding the 1 α -hydroxylase enzyme. Both siblings improved with calcitriol supplementation. The initial presentation of VDDR is often confusing and algorithmic evaluation helps in diagnosis. We also present a brief review of the literature including genetics.

Keywords: Familial Hypophosphatemic Rickets ; Children; 25-Hydroxyvitamin D3 1-alpha-Hydroxylase; Mutagenesis, Insertional.

INTRODUÇÃO

O raquitismo dependente de vitamina D tipo 1 (VDDR tipo 1) é uma causa rara de raquitismo refratário, causada por mutação no gene CYP27B1. Crianças com mutações são normais ao nascimento e à idade entre 6 meses e 2 anos apresentaram sintomas semelhantes aos do raquitismo por deficiência nutricional de vitamina D. Os sintomas comuns da doença são atraso nos marcos de desenvolvimento motor, hipotonia, fraqueza muscular e deformidades ósseas, enquanto alguns podem apresentar convulsões hipocalcêmicas no início da infância. Os achados laboratoriais incluem hipocalcemia, hiperparatireoidismo, baixos níveis de 1,25 (OH) 2D3 e valores séricos normais ou altos de 25(OH)D₃ com características radiográficas do raquitismo¹.

APRESENTAÇÃO DO CASO

Irmão 1. Um menino de 30 meses de idade apresentou queixa de crescimento lento, incapaz de se levantar e curvar as pernas. Seis meses antes dessa apresentação, ele recebeu injeção de vitamina D em outro hospital, após o qual não houve melhora nos sintomas. Ao exame físico, havia hipotonia, abaulamento frontal, rosário raquítico, alargamento do punho e genu varum bilateral. Os testes bioquímicos mostraram hipocalcemia, hipofosfatemia, fosfatúria e altos níveis séricos de ALP e PTH, com vitamina D normal (Tabela 1). A possibilidade de acidose tubular renal foi descartada devido à história negativa de poliúria e pH normal dos gases sanguíneos.

TABELA 1. PARÂMETROS DOS DOIS IRMÃOS ANTES E APÓS O TRATAMENTO.

Parâmetros	Irmão 1		Irmão 2	
	Antes do tratamento	Após o tratamento (15 meses)	Antes do Tratamento	Após o tratamento (15 meses)
Peso (kg)	7.88	12.7	6	10.24
Altura (cm)	72	89.5	69	83.5
Cálcio total (mg/dL)	9.2	9.9	8.8	9.9
Fosfato sérico (mg/dL)	1.8	4.99	2.1	5.86
Fosfatase alcalina (IU/L)	1122	293	1238	318
Vitamina D 25-OH (ng/mL)	35.3	40.43	34.9	35.57
Vitamina D 1,25-OH* (pg/mL)	-	77.2	-	97.4
PTH (pg/mL)	330.2	79.1	670.7	38.9
TRP (pg/mL)	52%		74.1%	

PTH: Hormônio da Paratireóide; RTF: Reabsorção Tubular de Fosfato.* A Vitamina D 1,25-OH foi feita após o início do tratamento.

O raquitismo hipofosfatêmico foi considerado uma possibilidade, já que a excreção fracionada de fosfato na urina estava em 48%; portanto, ele foi iniciado com suplementos de fosfato, vitamina D e cálcio, mas não houve melhora. Além disso, o diagnóstico diferencial de VDDR tipo 1 foi considerado e o paciente foi iniciado com calcitriol a 30 ng/kg/dia, juntamente com suplementação de fosfato (solução de Joulie) a 2 mmols/kg/dia. Houve melhora bioquímica e clínica após o início do tratamento (Tabela 1).

Irmão 2. Esse paciente era o irmão mais novo do caso 1. Ele apresentou queixas semelhantes aos 15 meses de idade. No exame, ele tinha alargamento do punho, grande fontanela anterior aberta e pernas tortas. Os exames laboratoriais mostraram hipocalcemia, hipofosfatemia, fosfatúria e elevação dos níveis séricos de ALP e PTH com níveis normais de vitamina D (Tabela 1). A radiografia bilateral dos punhos sugeriu raquitismo. Iniciamos tratamento com calcitriol a 30 ng/kg/dia e suplementos de fosfato a 2 mmol/kg/dia, o que resultou em rápida melhora das anormalidades bioquímicas e clínicas. Ele conseguiu deambular e sua altura aumentou a uma taxa de 10 cm/ano. O tratamento foi ajustado em ambos os pacientes conforme necessário, de acordo com os níveis séricos de cálcio e fosfato, PTH e cálcio urinário/creatinina nas visitas subsequentes. A dose de calcitriol foi gradualmente reduzida para (20 ng/kg/dia e 10 ng/kg/dia) nos irmãos 1 e 2, respectivamente durante alguns meses de acompanhamento. Da mesma forma, a solução de Joulie foi administrada a uma dose inicial para baixos níveis de fosfato e foi desmamada e interrompida durante o acompanhamento. Foi realizada ultrassonografia renal regular nas consultas de acompanhamento.

A análise da sequência gênica mostrou uma mutação homozigótica c.1294C> T (p.Arg432Cys) no exon 8 do gene *CYP27B1* em ambos os irmãos. Essa mutação foi relatada anteriormente em um paciente com VDDR tipo 1, é um teste patogênico e funcional, que revelou que essa mutação missense retém apenas 6,9% da atividade da 1 α -hidroxilase do tipo selvagem². Os pais eram não consanguíneos e assintomáticos. Embora, infelizmente, o teste genético dos pais não estivesse disponível, é previsto que ambos os pais sejam heterozigotos para a mutação. Não houve mutação patogênica em *PHEX* e *FGF23*.

DISCUSSÃO

A vitamina D é um pró-hormônio inativo e sua ativação requer hidroxilação sequencial pelas enzimas do citocromo P-450, resultando na formação de calcitriol ou 1-alfa, 25-di-hidroxivitamina D₃ (1,25(OH)₂D₃). A 25-hidroxi-vitamina D 1- α -hidroxilase é a enzima limitadora da taxa de ativação da vitamina D, expressa principalmente nos rins. Em pacientes VDDR tipo 1, devido ao bloqueio dessa atividade enzimática, existe um nível normal ou elevado de 25(OH)D₃, apesar do nível sérico baixo ou baixo normal 1,25(OH)₂D₃, simulando a deficiência clínica e radiológica de vitamina D³. Em estudos anteriores na Índia, o VDDR tipo 1 como causa de raquitismo refratário não foi confirmado por estudos genéticos^{4,5}. Um diagnóstico diferencial de VDDR tipo 1 deve ser feito em pacientes que não respondem à suplementação de vitamina D, uma vez descartada a ATR. Em nossos pacientes, suspeitou-se inicialmente de raquitismo hipofosfatêmico hereditário, em vista de hipofosfatemia, fosfatúria, ALP elevado e níveis normais de vitamina D, mas não houve

melhora nos sintomas e níveis séricos de ALP após o início da suplementação com vitamina D, fosfato e cálcio. Portanto, foi considerado um diagnóstico de VDDR tipo 1, o que foi confirmado pela identificação de mutação homozigótica no gene CYP27B1.

O mecanismo plausível para a fosfatúria em nossos casos-índice é o hiperparatireoidismo secundário. Fraser et al. em seu estudo original, mostraram que existem altos níveis circulantes de PTH no estágio 2 do VDDR⁶. O PTH é um hormônio potente que atua no receptor PTHR1 acoplado à proteína G, expresso nas células tubulares renais proximais e distais, e diminui a reabsorção do fosfato, causando o vazamento renal de fosfato. Esta hipótese é ainda corroborada pelo fato de que a hipofosfatemia e a fosfatúria foram corrigidas pela restauração dos níveis séricos de cálcio usando calcitriol e, assim, a supressão do hiperparatireoidismo.

O gene CYP27B1 está localizado no cromossomo 12q13.3, composto por 17 hélices, 6 filamentos β e 9 exons, abrangendo 4859 bases⁷. Yamamoto et al.

também identificaram resíduos de aminoácidos cujas mutações pontuais causam alterações conformacionais da proteína, levando à ausência de atividade enzimática. O aminoácido R432, que foi encontrado como alterado em nossos pacientes, e faz parte do motif altamente conservado de ERR na hélice K, e a tríade de ERR é proposta para formar o dobramento conservado do núcleo nos CYPs mitocondriais, de modo que a mutação R432C pode causar uma ruptura significativa na estrutura da proteína⁸.

Até o momento, 71 mutações diferentes no CYP27B1 foram relatadas em associação com fenótipos do VDDR tipo 1 de diferentes grupos étnicos e diferentes países⁹. As mutações relatadas incluem mutações missense (mais comuns, Tabela 2), deleções, inserções, mutações missenses, mutações de splicing, e assim por diante^{1, 10-12}. A mutação observada em nossos pacientes foi homozigótica, mas a mesma mutação foi relatada anteriormente como mutação heterozigótica composta em um paciente chinês².

TABELA 2. CORRELAÇÃO GENÓTIPO/FENÓTIPO EM DIFERENTES MUTAÇÕES MISSENSE DO CYP27B1.

Genótipo	Fenótipo
Q65H R107H P112 L G125E P143 L D164N S323Y R335P P382S R389C R389G R389H T409I R429P R453C V478G P497R	Essas mutações não foram associadas a atividade enzimática, causando fenótipos graves.
G57V G73W R459C L333F R432C R492W	Essas mutações foram associadas a 5,6-12,1 % de atividade enzimática, assim causando fenótipos moderados a severos. Entretanto, houve heterogeneidade clínica em pacientes com a mutação G57V.
E189G E189K L343F	Atividade parcial da 1-hydroxylase, variando entre 2.3 e 22%.
T321R	Sem atividade enzimática, mas o fenótipo relatado é discreto.
G102E	Essa mutação tem 80% de redução na atividade enzimática, causando fenótipo severo, mas foi relatado que alguns fenótipos têm doença discreta.

Poucos casos foram relatados com concentrações normais de $25(\text{OH})\text{D}_3$ e $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e com mutações *missense* homozigóticas¹², que foram consideradas causadoras de alterações conformacionais na proteína, limitando a eficiência da enzima. Essa heterogeneidade clínica sugere uma relação genótipo-fenótipo nesse gene, semelhante a outros genes CYP. Como nosso paciente necessitou de suplementação contínua de calcitriol, acreditamos que a mutação c.1294C> T (p.Arg432Cys) esteja provavelmente associada a uma grave inatividade enzimática.

CONCLUSÃO

Embora seja um distúrbio raro, o VDDR tipo 1 deve ser considerado mesmo em países onde a deficiência de vitamina D seja comum. As análises genéticas são benéficas para o diagnóstico precoce e o manejo posterior de prováveis casos familiares.

ABREVIACIONES

VDDR tipo 1 - raquitismo dependente de vitamina D tipo 1

PHEX - homólogo da endopeptidase reguladora de fosfato ligado ao X

FGF23 - Fator de crescimento de fibroblastos 23

CYP27B1 - família 1 do citocromo P450, subfamília B, membro 1

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Rachita Singh Dhull, Reena Jain, Bobbity Deepthi, Hae Il Cheong, Abhijeet Saha, Mohit Mehndiratta e Srikanta Basu contribuíram substancialmente para a concepção ou formatação do estudo; coleta, análise ou

interpretação de dados; redação ou revisão crítica do manuscrito; e aprovação final da versão a ser publicada.

REFERÊNCIAS

1. Wang JT, Lin CJ, BurrIDGE SM, Fu GK, Labuda M, Portale AA, et al. Genetics of vitamin D 1 α -hydroxylase deficiency in 17 families. *Am J Hum Genet.* 1998 Dec;63(6):1694-702.
2. Cui N, Xia W, Su H, Pang L, Jiang Y, Sun Y, et al. Novel mutations of CYP27B1 gene lead to reduced activity of 1 α -hydroxylase in Chinese patients. *Bone.* 2012 May;51(3):563-69.
3. Henry HL. Regulation of vitamin D metabolism. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011 Aug;25(4):531-41.
4. Joshi RR, Patil S, Rao S. Clinical and etiological profile of refractory rickets from western India. *Indian J Pediatr.* 2013 Nov;80(7):565-69.
5. Bajpai A, Bardia A, Mantan M, Hari P, Bagga A. Non-azotemic refractory rickets in Indian children. *Indian Pediatr.* 2005;42:23-30.
6. Fraser D, Kooh SW, Scriver CR. Hyperparathyroidism as the cause of hyperaminoaciduria and phosphaturia in human vitamin D deficiency. *Pediatr Res.* 1967 Nov;1(6):425-35.
7. Kitanaka S, Takeyama K, Murayama A, Kato S. The molecular basis of vitamin D-dependent rickets type I. *Endocr J.* 2001 Aug;48(4):427-32.
8. Yamamoto K, Masuno H, Sawada N, Sakaki T, Inouye K, Ishiguro M, et al. Homology modeling of human 25 hydroxyvitamin D3 1 α hydroxylase (CYP27B1) based on the crystal structure of rabbit CYP2C5. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004 Apr;89-90(1-5):167-71.
9. QIAGEN Digital Insights. The Human Gene Mutation Database - HGMD® Professional 2018.3 [Internet]. Redwood, US: QIAGEN; 2018; [access in 2019 Mar 07]. Available from: <https://portal.biobaseinternational.com/hgmd/pro/start.php>
10. Hu WW, Ke YH, He JW, Fu WZ, Wang C, Zhang H, et al. A novel compound mutation of CYP27B1 in a Chinese family with vitamin D-dependent rickets type 1A. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2014 Mar;27(3-4):335-41.
11. Demir K, Kattan WE, Zou M, Durmaz E, BinEssa H, Nalbantoglu O, et al. Novel CYP27B1 Gene mutations in patients with vitamin d-dependent rickets type 1A. *PLoS ONE.* 2015 Jul;10(7):e0131376.
12. Wang X, Zhang MY, Miller WL, Portale AA. Novel gene mutations in patients with 1 α -hydroxylase deficiency that confer partial enzyme activity in vitro. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Jun;87(6):2424-30.