



ORIGINAL BREVE

## Diferente expresividad de la mutación *Asn264LysfsX35* del gen *GNAS* en una familia afectada de pseudohipoparatiroidismo

A. de Arriba Muñoz<sup>a</sup>, J.I. Labarta Aizpún<sup>a,\*</sup>, E. Mayayo Dehesa<sup>a</sup>,  
M.T. Calvo<sup>b</sup>, G. Pérez de Nanclares<sup>c</sup> y A. Ferrández-Longás<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Unidad de Endocrinología Pediátrica, Hospital Infantil Miguel Servet, Zaragoza, España

<sup>b</sup> Unidad de Genética Molecular, Hospital Infantil Miguel Servet, Zaragoza, España

<sup>c</sup> Unidad de Investigación, Hospital de Txagorritxu, Vitoria, España

Recibido el 14 de septiembre de 2010; aceptado el 22 de septiembre de 2010

Disponible en Internet el 18 de diciembre de 2010

### PALABRAS CLAVE

Pseudohipoparatiroidismo;  
Proteína  $G_{s\alpha}$ ;  
*GNAS*;  
Imprinting genético

### KEYWORDS

Pseudohypoparathyroidism;  
 $G_{s\alpha}$ -protein;  
*GNAS* gene;  
Genetic Imprinting

**Resumen** El pseudohipoparatiroidismo (PHP) comprende un grupo heterogéneo de enfermedades endocrinológicas que se caracterizan por la existencia de hipocalcemia, hiperfosfatemia y resistencia tisular a la hormona paratiroidea. Se distinguen diferentes formas de PHP. El PHP-Ia es la forma más frecuente y asocia resistencia hormonal múltiple, signos clínicos de osteodistrofia hereditaria de Albright (OHA) y mutaciones en el gen *GNAS* codificador de la proteína  $G_{s\alpha}$ . El pseudoPHP (PPHP) asocia igualmente mutaciones en el gen *GNAS* pero cursa con OHA aislada sin anomalías endocrinas. Se presenta una familia con madre afectada de PPHP y dos hijas con PHP-Ia que comparten la misma mutación inactivadora en heterocigosis en el gen *GNAS* (*Asn264LysfsX35*). Se discute la diferente expresividad clínica así como el modelo de herencia dominante con impronta genética en el que el fenotipo de la descendencia está determinado por el sexo del progenitor afecto.

© 2010 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

### Different expression of the *Asn264LysfsX35* mutation of the *GNAS* gene in a family with pseudohypoparathyroidism

**Abstract** Pseudohypoparathyroidism (PHP) is a heterogeneous group of endocrine diseases characterised by hypocalcaemia, hyperphosphataemia and resistance to PTH. There are different forms of PHP. PHP-Ia is the most frequent form and shows multi-hormonal resistance, *GNAS* ( $G_{s\alpha}$ ) mutations and signs of Albright's hereditary osteodystrophy (AHO). PseudoPHP (PPHP) have isolated AHO without hormonal resistance and it is also caused by *GNAS* mutations. We present a family that share the same inactivating *GNAS* mutation (*Asn264LysfsX35*);

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jilabarta@salud.aragon.es (J.I. Labarta Aizpún).

the mother being affected with PPHP and the two daughters with PHP-Ia. We discuss the different clinical phenotypes and the dominant mode of inheritance with genetic imprinting where the phenotype of the offspring depends on the sex of the parent affected.

© 2010 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

El pseudohipoparatiroidismo (PHP) comprende un grupo heterogéneo de enfermedades endocrinológicas que se caracterizan por hipocalcemia, hiperfosfatemia y resistencia a la hormona paratiroidea (PTH). La resistencia parece estar limitada al túbulo renal proximal mientras que las acciones de la PTH se mantienen intactas en otros tejidos<sup>1</sup>. El mecanismo de acción de la PTH se basa en su unión a un receptor de membrana acoplado a la proteína  $G_{s\alpha}$  (codificada por el gen *GNAS*), encargada de transmitir la señal biológica a nivel intracelular. Se distinguen dos formas clínicas de PHP en función de la respuesta del AMPc urinario y de la fosfatemia a la administración exógena de PTH: el tipo I sin respuesta y el tipo II con niveles de AMPc urinario que aumentan pero no la fosfatemia. El PHP-I se clasifica en tres subtipos en función de la presencia de anomalías endocrinas, mutaciones en el gen *GNAS* ( $G_{s\alpha}$  y presencia o no de Osteodistrofia Hereditaria de Albright (OHA). El PHP-Ia es el más frecuente y asocia mutaciones en el gen *GNAS* codificador de  $G_{s\alpha}$ , resistencia multihormonal y OHA<sup>2,3</sup>. El PPHP presenta OHA sin resistencia hormonal. La impronta genética se refiere a la expresión exclusiva o preferencial de un solo alelo según sea el progenitor de origen; se habla de *imprinting* materno o paterno

cuando solamente se expresa el alelo paterno o materno, respectivamente. La impronta se asocia a modificaciones epigenéticas del ADN que ocurren durante la gametogénesis y desarrollo embrionario. Esta expresión genética diferencial puede durar toda la vida o un estadio del desarrollo y ser generalizada o limitada a un tejido. Clínicamente, los posibles efectos de la impronta son que mutaciones con transmisión vertical puedan no manifestarse en generaciones siguientes con aparente falta de penetrancia; la existencia de cuadros clínicos diferentes en caso de deleciones cromosómicas idénticas; la aparición de un fenotipo patológico en caso de disomías uniparentales y el efecto diferencial de las mutaciones somáticas, como ocurre en las neoplasias<sup>4</sup>.

El locus *GNAS* (20q13.2-13.3) y los diferentes transcritos para los que codifica (proteínas  $G_{s\alpha}$ ,  $XL_{\alpha 5}$ , NESP55 y transcrito A/B) están sometidos a *imprinting*. El transcrito  $G_{s\alpha}$  tiene *imprinting* paterno (sólo es funcional el alelo materno) en hipófisis, tiroides, gónadas y túbulo renal, siendo de expresión bialélica en el resto de tejidos. Se han encontrado mutaciones en el gen *GNAS* tanto en pacientes con PHP-Ia como en el PPHP<sup>5</sup>. Se presenta una familia con PHP y una misma mutación en el gen *GNAS* con fenotipos diferentes reflejando la variabilidad y heterogeneidad genética de esta entidad.

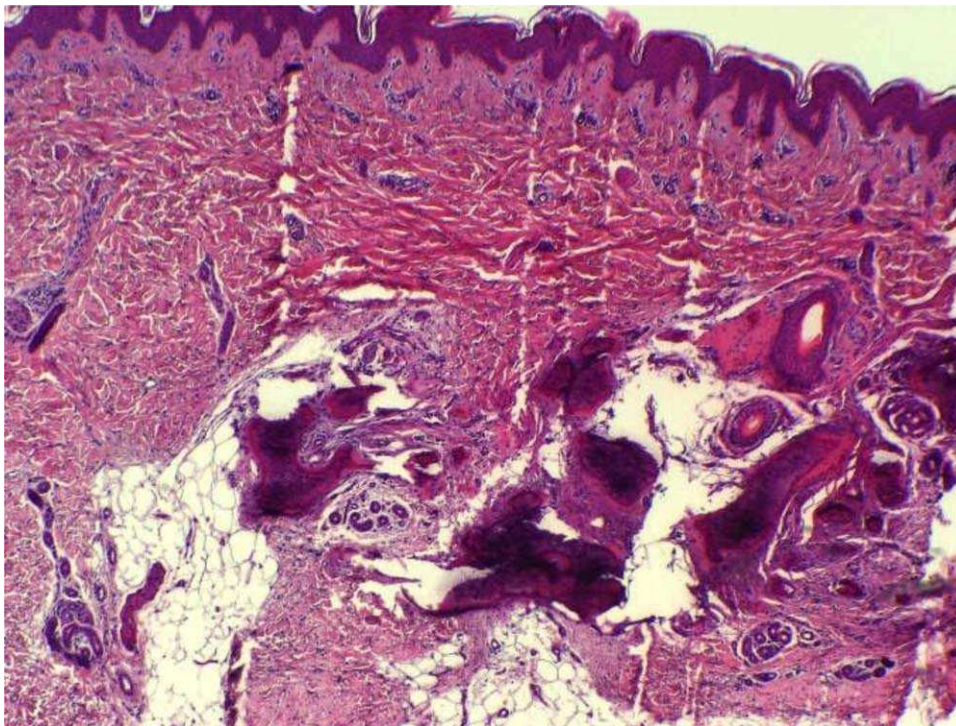
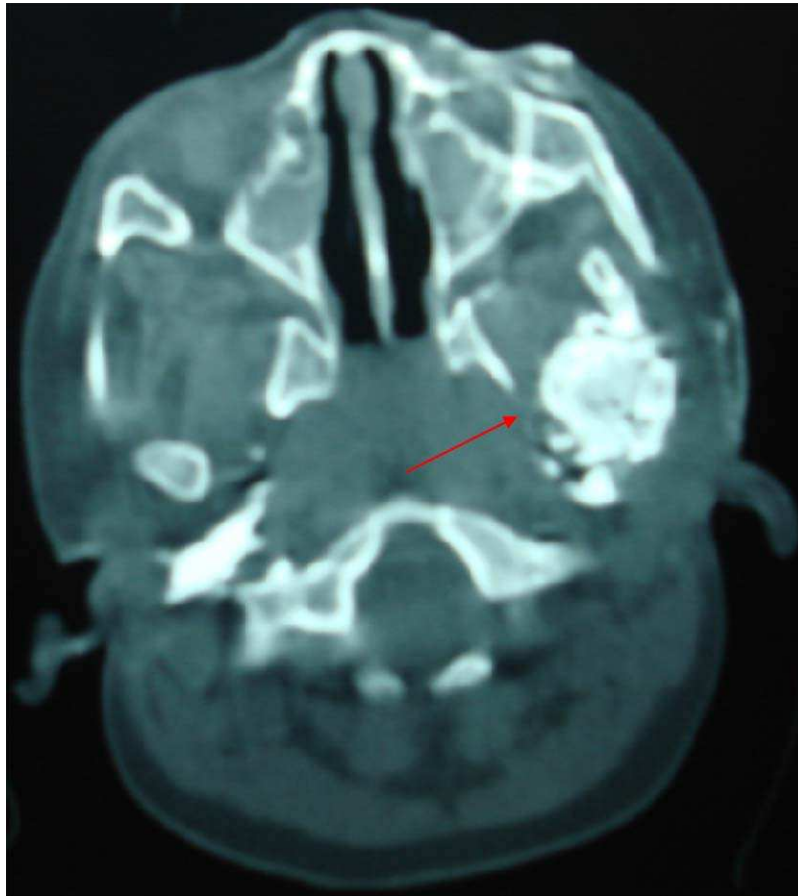


Figura 1 Osteoma cutis (caso 1).



**Figura 2** Osificación heterotópica profunda a nivel de la articulación temporo-mandibular y tejidos profundos (caso 2).

## Casos clínicos

### Caso 1

Recién nacida diagnosticada de hipotiroidismo congénito. Diabetes gestacional en embarazo. Padre con hipotiroidismo congénito en tratamiento y fenotipo normal. Hábito tosco, cutis marmorata; ganancia de peso excesiva en primer año de vida y desarrollo motor retardado con desarrollo cognitivo normal. A los 18 meses lesiones máculo-papulosas induradas en tronco y extremidades diagnosticándose por biopsia de osteoma cutis (OC) (fig. 1). Se realiza estudio fosfo-cálcico y se diagnostica de PHP-1a, iniciándose tratamiento a los 2,7 años. Crecimiento normal con talla y peso en percentil 50. Última densitometría ósea Z-score +2,41 DE.

### Caso 2

Recién nacida, hermana del anterior caso, diagnosticada de hipotiroidismo congénito. En exploración neonatal se observa fenotipo tosco, discreta macroglosia, hábito abotargado y a los 15 días de vida zona empastada en región mandibular izquierda. A los 4 meses se realiza biopsia objetivándose tejido fibroadiposo que engloba estructuras calcificadas y osificadas. Desarrollo motor lento con desarrollo cognitivo dentro de la normalidad. Lesiones induradas superficiales en tronco y extremidades. Se diagnóstica de

PHP-1a y se inicia tratamiento a los 11 meses. El TAC muestra una masa extensa de calcinosis subcutánea en región mandibular izquierda desde el mentón hasta la articulación temporomandibular izquierda, infiltra componentes blandos articulares y tendinosos profundos y produce una anquilosis de la articulación (osificación heterotópica profunda) (fig. 2). Con 4 años se realiza osteoartrectomía radical y artroplastia reconstructora.

### Caso 3

Madre intervenida de tenosinovitis calcificante recurrente del nervio mediano y de rodilla. Facies tosca, cutis marmorata, talla 153 cm (-1,8 DE), peso 52 kg (-0,5 DE), metabolismo calcio-fósforo normal, diagnosticándose de PPHP. No asocia enfermedades concomitantes, presentando desarrollo neurocognitivo dentro de la normalidad.

Estudio genético familiar: mutación en heterocigosis en el exón 9 del gen *GNAS* (inserción de una adenina), que conlleva la alteración de la pauta de lectura a partir del aminoácido 264 y la generación de una proteína truncada (Asn264LysfsX35) (tabla 1).

## Discusión

Tanto el PHP-1a como el PPHP asocian mutaciones en heterocigosis que afectan a los exones codificantes de la proteína

Tabla 1 Casos clínicos

	Caso 1	Caso 2	Caso 3
TSH talón (mcUI/ml)	48	17,4	
TSH suero (mcUI/ml)	65,66	50,2	1,61
T4L suero (pg/ml) (VN:8,5-18)	13,4	10,9	12,3
Gammagrafía tiroides	In situ	In situ	
Edad inicio T4	5 días	8 días	
Dosis inicio T4 (mcg/kg/d)	10,5	14,2	
Edad diagnóstico PHP	2 años 7 meses	7 meses	35 años
Ca (mg/dl)	7,6	8,7	9,1
P (mg/dl)	6,9	6,7	4,2
PTH (pg/ml)	839	75	41
TRP (%) (VN: 85-95)	93,8	98	89
1,25 vit D3(pg/ml) (VN 18-78)	55,4	41,3	
25 vit D3 (ng/ml) (VN 12-80)	41,7	53,8	
AMPc orina (nmol/l) (VN 1,000-11,500)	695	2,065	
Fenotipo OHA al diagnóstico	Sí-severo	Sí-muy severo	Sí-leve
Talla al diagnóstico (cm) (DE <sup>a</sup> )	94 (+0,57)	71,7(+0,77)	153 (-1,8)
Peso al diagnóstico (kg) (DE <sup>a</sup> )	19,1(+3,42)	11,67(+3,88)	52 (-0,5)
IMC al diagnóstico (kg/m <sup>2</sup> )(DE <sup>a</sup> )	21,6(+4,3)	16,2(+4,05)	22,1 (0,2)
Osificación extraesquelética	Osteoma Cutis	Osteoma Cutis + Osificación heterotópica	Tenosinovitis calcificante multifocal recidivante
Dosis T4 (mcg/kg/día)	2,4	3,8	
Carbonato cálcico (mg/kg/día)	32,4	51	
Dosis calcitriol (ng/kg/día)	0,8	1,9	
Prolactina (ng/ml) (VN 1,2-29,9)	1,69	1,23	Normal
CI actual	Percentil 10-25 <sup>a</sup>	Percentil 25-50 <sup>a</sup>	Normal
Diagnóstico	PHP la	PHP la + Osificación heterotópica	PPHP
Gen GNAS	Exón 9 Asn264LysfsX35	Exón 9 Asn264LysfsX35	Exón 9 Asn264LysfsX35

<sup>a</sup> Estándares Longitudinales Centro Andrea Prader. Gobierno de Aragón.

Gs<sub>α</sub> del gen GNAS que condicionan una pérdida de función de la proteína. El PHP sigue un modelo de herencia dominante pero la misma mutación se asocia con fenotipos diferentes (PHP-la vs PPHP) debido al fenómeno de *imprinting*, de modo que el fenotipo está determinado por el sexo del progenitor que transmite la mutación. En la familia que se presenta, la madre tiene un PPHP y transmite a sus hijas la mutación pero al ocurrir la mutación en el alelo materno, alelo funcional, se desarrolla un cuadro de PHP-la. Sin embargo, cuando la mutación se hereda del padre se desarrolla un PPHP, independientemente de que el padre tenga un PHP-la o PPHP. La resistencia a la PTH se desarrolla sólo cuando la mutación se hereda de la madre, mientras que el fenotipo OHA se desarrolla cuando se hereda de cualquiera de los dos progenitores. Esta expresión diferencial se explica porque en el túbulo renal, tiroides, hipófisis y gónadas, el transcrito Gs<sub>α</sub> está sometido a *imprinting* paterno y si la mutación está presente en el alelo materno, el activo, la funcionalidad de la proteína quedaría a expensas del alelo paterno, pero como está improntado no se expresa, con una ausencia total de la proteína y un cuadro de resistencia a las hormonas que actúan a través de Gs<sub>α</sub><sup>6,7</sup>. El estudio familiar que se presenta es concordante con este modelo de herencia dominante con fenómeno de *imprinting*.

La misma mutación de GNAS puede presentarse con una severidad variable y diversidad fenotípica tanto para casos esporádicos como para casos intrafamiliares, como así lo demuestra la familia que se presenta<sup>8,9</sup>. Esta varia-

bilidad se pueden explicar por modificaciones epigenéticas no conocidas y/o por la compleja regulación transcripcional del gen GNAS o por la participación de genes modificadores diferentes de GNAS o por factores ambientales<sup>10-12</sup>. Esta heterogeneidad genética se manifiesta en la presencia de fenotipos distintos (PPHP vs PHP-la) y en que el grado de severidad de la resistencia hormonal (PHP-la) varía entre cada paciente, incluso dentro de la misma hermandad, como ocurre en nuestro caso. El caso 2 es más severo (comienzo más temprano, lesiones de OC más extensas, calcificación profunda en hemicara izquierda, requerimiento de más dosis de tiroxina, carbonato cálcico y de calcitriol), indicando que otros factores genéticos influyen en la expresividad del cuadro. Este caso presenta una osificación heterotópica profunda, típica de la heteroplasia ósea progresiva (HOP), caracterizada por una osificación heterotópica severa y progresiva que afecta a músculos y tejidos conectivos profundos en ausencia de OHA y resistencia hormonal y se asocia también con mutaciones inactivadoras en heterocigosis en el gen GNAS<sup>13,14</sup>. El fenotipo HOP solamente aparece cuando la mutación es heredada del padre, pero no de la madre<sup>15</sup>. Algunas mutaciones identificadas en la HOP son idénticas a otras halladas en el PHP-la y en el PPHP sugiriendo que las mutaciones del gen GNAS no son el único elemento fisopatológico implicado. No es frecuente que la HOP y PHP-la ocurran en el mismo paciente ya que se asocian con una transmisión alelo-específica diferente (padre vs madre), pero se han descrito casos aislados que compar-

**Tabla 2** Características clínicas y moleculares asociados con diferentes formas de PHP-I

Fenotipo	Resistencia PTH	Otras resistencias hormonales <sup>a</sup>	Signos de OHA <sup>b</sup>	Mutación GNAS- Gs <sub>α</sub>	Defecto epigenético de GNAS	Herencia parental
PHP-Ia	Sí	Sí	Sí	Sí/Gs <sub>α</sub> disminuida	No	Materna
PPHP	No	No	Sí	Sí/Gs <sub>α</sub> disminuida	No	Paterna
HOP	No	No	No	Sí/Gs <sub>α</sub> disminuida	No	Paterna
PHP-Ib	Sí	TSH en algunos casos	No	No/Delección gen STX16/NESP55 <sup>c</sup> Gs <sub>α</sub> normal	Sí	Materna

<sup>a</sup> Incluye menor acción de TSH, LH/FSH y GHRH.

<sup>b</sup> Incluye baja talla, obesidad, braquidactilia, calcificaciones subcutáneas, retraso mental.

<sup>c</sup> STX16: syntaxin 16. NESP55: neuroendocrine secretory protein 55 (locus GNAS).

ten manifestaciones de las dos entidades<sup>16,17</sup>. Posiblemente, la HOP represente el extremo más severo de las mutaciones inactivadoras del gen *GNAS* que cursan con osificación extraesquelética. El mayor grado de osificación heterotópica en algunos pacientes con PHP-Ia se podría explicar por el desarrollo de una segunda mutación somática en el alelo sano, en este caso en el alelo paterno. Esta teoría se apoya en que las osificaciones ectópicas en el PPHP, PHP-Ia y HOP siguen una distribución en mosaico si bien esta teoría no ha sido demostrada.

Gs<sub>α</sub> es una proteína de señalización intracelular de diferentes hormonas, factores de crecimiento y neurotransmisores. Sin embargo, en el PHP-Ia solamente se afectan una serie de ejes hormonales como TSH, GHRH, LH/FSH o déficits olfatorios y de prolactina, pero no otros como glucagón, vasopresina, CRH, ACTH, isoproterenol, debido a la expresión monoalélica de Gs<sub>α</sub> solamente en algunos tejidos<sup>18</sup>. Es posible también que el grado de *imprinting* paterno de Gs<sub>α</sub> no sea igual ni completo en todos los tejidos, contribuyendo a explicar la variabilidad clínica a nivel tiroideo, gonadal e hipofisario de los pacientes con PHP-Ia. Estos pacientes presentan un moderado retraso intelectual de patogenia no aclarada y que no parece depender del hipotiroidismo congénito sino de las acciones neuronales de la proteína Gs<sub>α</sub>.

El PHP-Ib se caracteriza por ausencia de OHA y presentar resistencia renal a la PTH y en ocasiones parcial a la TSH con actividad normal de la proteína Gs<sub>α</sub>. Estudios recientes asocian la presencia de PHP-Ib con defectos en genes reguladores de la metilación del gen *GNAS* materno (STX16, NESP55) que determinan una alteración de la impronta de los transcritos del locus *GNAS* diferentes de la proteína Gs<sub>α</sub>. Se han descrito formas leves de PHP-Ia en los que no se han encontrado mutaciones en los exones que codifican Gs<sub>α</sub> que presentan defectos de metilación semejantes a los encontrados en el PHP-Ib indicando un cierto solapamiento entre estas dos entidades, pensándose que todos los pacientes con resistencia a la PTH y signos de OHA deberían ser estudiados a nivel molecular no sólo para el gen Gs<sub>α</sub> sino también para los defectos epigenéticos de *GNAS*<sup>19,20</sup> (tabla 2).

La diferente expresividad clínica y la heterogeneidad genética son dos características del PHP ligado a mutaciones del gen *GNAS* siendo necesaria la identificación de la mutación en los casos de PPHP y PHP-Ia para poder realizar un consejo genético adecuado.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

- Bastepe M, Jüppner H. GNAS locus and pseudohypoparathyroidism. *Horm Res.* 2005;63:65–74.
- Wemeau JL, Balavoine AS, Ladsous M, Velayoudom-Cephise FL, Vlaeminck-Guillem V. Multihormonal resistance to parathyroid hormone, thyroid stimulating hormone, and other hormonal and neurosensory stimuli in patients with pseudohypoparathyroidism. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2006;19:653–61.
- Bastepe M. The GNAS locus and pseudohypoparathyroidism. *Adv Exp Med Biol.* 2008;626:27–40.
- Pérez Jurado LA. Impronta genómica y endocrinología. *An Pediatr.* 2004;60:49–54.
- Weinstein L, Liu J, Sakamoto A, Xie T, Chen M. GNAS: normal and abnormal functions. *Endocrinology.* 2004;145:5459–64.
- Pérez de Nanclares G, Fernández-Rebollo E, Gaztambide S, Castaño L. Pseudohipoparatiroidismo: diagnóstico genético. *An Pediatr.* 2009;70:6–14.
- Liu J, Erlichman B, Weinstein LS. The stimulatory G protein alpha-subunit Gs alpha is imprinted in human thyroid glands: implications for thyroid function in pseudohypoparathyroidism types 1A and 1B. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:4336–41.
- Bastepe M, Jüppner H. Pseudohypoparathyroidism and mechanisms of resistance toward multiple hormones: molecular evidence to clinical presentation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:4055–8.
- Weinstein LS, Yu S, Warner DR, Liu J. Endocrine manifestations of stimulatory G protein alpha-subunit and the role of genomic imprinting. *Endocr Rev.* 2001;22:675–705.
- Linglart A, Carel JC, Garabedian M, Le T, Mallet E, Kottler ML. GNAS lesions in pseudohypoparathyroidism Ia and Ic: genotype phenotype relationship and evidence of the maternal transmission of the hormonal resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:189–97.
- Jüppner H, Bastepe M. Different mutations within or upstream of the GNAS locus cause distinct forms of pseudohypoparathyroidism. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2006;19:641–6.
- Farfel Z. Pseudohypoparathyroidism: a multitude of mutations in the stimulatory G protein  $\alpha$ -subunit (Gs $\alpha$ ). *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2002;15:225–57.
- Kaplan FS, Shore EM. Progressive osseous heteroplasia. *J Bone Miner Res.* 2000;15:2084–94.
- Adegbite NS, Xu M, Kaplan FS, Shore EM, Pignolo RJ. Diagnostic and mutational spectrum of progressive osseous heteroplasia

- (POH) and other forms of GNAS-based heterotopic ossification. *Am J Med Genet A*. 2008;146:1788–96.
15. Shore EM, Ahn J, Jan de Beur S, Li M, Xu M, Gardner RJM, et al. Paternally inherited inactivating mutations of the GNAS gene in progressive osseous heteroplasia. *N Engl J Med*. 2002;346:99–106.
  16. Gelfand IM, Hub RS, Shore EM, Kaplan FS, Dimeglio LA. Progressive osseous heteroplasia-like heterotopic ossification in a male infant with pseudohypoparathyroidism type Ia: a case report. *Bone*. 2007;40:1425–8.
  17. Eddy MC, Jan de Beur SM, Yandow SM, McAlister WH, Kaplan FS, Shore EM, et al. Deficiency of the  $\alpha$ -subunit of the stimulatory G protein and severe extraskeletal ossification. *J Bone Miner Res*. 2000;15:2074–83.
  18. Mantovani G, Bondioni S, Locatelli M, Pedroni C, Lania AG, Ferrante E, et al. Biallelic expression of the Gsalpha gene in human bone and adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:6316–9.
  19. Mantovani G, De Sanctis L, Barbieri AM, Elli FM, Bollati V, Vaira V, et al. Pseudohypoparathyroidism and GNAS epigenetic defects: clinical evaluation of Albright hereditary osteodystrophy and molecular analysis in 40 patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:651–8.
  20. Pérez de Nanclares G, Fernández-Rebollo E, Santin I, García-Cuartero B, Gaztambide S, Menéndez E, et al. Epigenetic defects of GNAS in patients with pseudohypoparathyroidism and mild features of Albright's hereditary osteodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:2370–3.