



# **UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA**

**Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova**

**Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche**

**SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN:  
Scienze Mediche Cliniche e Sperimentali**

**INDIRIZZO: Nefrologia**

**CICLO: XX**

## **TITOLO TESI**

**TERAPIA DELL'IPERPARATIROIDISMO SECONDARIO NEI  
PAZIENTI EMODIALIZZATI**

**Direttore della Scuola: Ch.mo Prof. Silvano Todesco**

**Supervisore: Ch.mo Prof. ssa Angela D'Angelo**

**Dottorando: Dott. Gianni Carraro**

## **INDICE**

RIASSUNTO.....	pag. 3
INTRODUZIONE.....	pag. 7
• Paratormone (PTH): fisiologia e fisiopatologia dell'SHPT.....	pag. 10
• Il recettore sensibile al calcio.....	pag. 25
• Quadri patologici legati all'iperparatiroidismo secondario.....	pag. 29
• Parametri bioumorali.....	pag. 35
• Terapie tradizionali.....	pag. 40
• Composti in grado di modulare l'attività del CaR.....	pag. 44
SCOPO DELLA TESI.....	pag. 49
MATERIALI E METODI.....	pag. 51
• Protocollo dello studio.....	pag. 51
• Determinazioni biochimiche su campioni ematici e di ultrafiltrato dialitico.....	.....
.....	pag. 57
• Valutazione statistica dei dati.....	pag. 61
RISULTATI.....	pag. 63
DISCUSSIONE E CONCLUSIONI.....	pag. 71
BIBLIOGRAFIA.....	pag. 77

## **RIASSUNTO**

Introduzione: l'iperparatiroidismo secondario (SHPT) caratterizza sin dalle prime fasi il decorso dell'insufficienza renale cronica ed ha un ruolo importante nella patogenesi della osteodistrofia uremica e della malattia cardiovascolare, quest'ultima responsabile della elevata mortalità nei pazienti uremici.

La terapia tradizionale dell'iperparatiroidismo secondario (restrizione dietetica di fosfato, chelanti del fosfato, supplementi di calcio e metaboliti della Vitamina D) risulta di fatto inadeguata in oltre il 50% dei pazienti in emodialisi.

Scopo dello studio: abbiamo valutato l'efficacia di Cinacalcet (AMG 073), un calciomimetico di nuova generazione, nel trattamento del SHPT in un gruppo di pazienti sottoposti a trattamento emodialitico da almeno 1 anno.

Materiali e metodi: abbiamo analizzato 18 pazienti, di età compresa tra 34-80 anni (età media  $62,90 \pm 12,68$  anni), in terapia emodialitica da 1-23 anni (media  $7,56 \pm 5,60$  anni), con SHPT di gravità variabile. Dopo aver somministrato la prima dose, 30 mg/die, abbiamo variato la posologia del calciomimetico e della concomitante terapia attiva sul metabolismo calcio-fosforo in base ai livelli di PTH, Ca, P e Ca·P.

I parametri biochimici sono stati poi monitorati nel tempo, fino ad arrivare a due anni dall'inizio della terapia. In 6 di questi pazienti, prima e dopo 3 mesi di terapia, sono stati valutati come markers di turnover osseo la fosfatasi alcalina ossea (b-ALP) a livello ematico e la desossipiridinolina (DPD) che è stata dosata nell'ultrafiltrato dialitico essendo i pazienti emodializzati anurici.

Risultati: all'inizio dello studio il 28% dei pazienti presentava iperparatiroidismo lieve (PTH < 500 pg/mL), il 39% iperparatiroidismo moderato (PTH = 500-800 pg/mL) e il 33% iperparatiroidismo grave (PTH > 800 pg/mL).

La terapia con Cinacalcet ha determinato una significativa riduzione del PTH e del prodotto Ca·P già dopo 2 settimane dall'inizio della terapia (PTH medio basale 762,2

$\pm 430$  pg/mL; Ca·P medio basale  $60,72 \pm 12,45$  mg<sup>2</sup>/dL<sup>2</sup>; PTH medio precoce  $443 \pm 318$  pg/mL; Ca·P medio precoce  $46,6 \pm 12,2$  mg<sup>2</sup>/dL<sup>2</sup>). A due anni l'86% presenta SHPT lieve ed il restante 14% moderato: nessuno presenta SHPT grave. La b-ALP e la DPD si riducevano rispettivamente in 4 e 5 pazienti dei 6 analizzati.

Non vi sono stati sintomi avversi alla dose di 30 mg/die, e in 2 pazienti, a dosaggio superiore, nausea e vomito sono regrediti ritornando alla dose iniziale. Nessuno ha dovuto sospendere il trattamento per ipocalcemia.

Conclusioni: la terapia con calciomimetici (a dosi per lo più modeste) non soltanto è risultata associata a rapida, significativa e persistente riduzione del PTH, ma ha determinato consensualmente una riduzione dei livelli sierici di calcio, fosforo e conseguentemente del prodotto Ca·P.

Il meccanismo attraverso cui ciò si realizza risiede, probabilmente, in un minor afflusso di calcio dall'osso al compartimento ematico. Il fattore primario di capace di indurre tali variazioni consiste nell'inibizione della secrezione del PTH indotta dal calcio mimetico. Il PTH infatti agisce sul tessuto osseo in due modi distinti:

1. attiva il ricambio osseo potenziando l'attività degli osteoblasti e degli osteoclasti;
2. aumenta il livello della calcemia alla quale i flussi di calcio tra i liquidi extracellulari sistemici e i liquidi periossei si stabilizzano, operando nelle cellule limitanti che rivestono la teca ossea.

## **SUMMARY**

Introduction: secondary hyperparathyroidism (SHPT) characterizes, by the first phases, the course of the chronic kidney disease and it has an important role in the pathogenesis of the osteitis fibrosa and the cardiovascular disease (that is responsible for the significant mortality in the uremic patients).

The traditional medical therapy of the secondary hyperparathyroidism (dietetics restriction of phosphorus, phosphate bindings, calcium supplements and active metabolite of Vitamin D) results in fact inadequate for over 50% of the hemodialysis patients.

Object: The goal of the study is to evaluate the effectiveness of the Cinacalcet (AMG 073), a new generation calcimimetic, in the treatment of SHPT in a group of hemodialytic patients by at least one year.

Materials and methods: we studied 18 patients, 10 females and 8 males, with an age included between 34-80 years, in hemodialytic therapy by 1-23 years, with a hyperparathyroidism of variable seriousness degree.

After the first dose, 30 mg/die, we changed the dosage of the calcimimetic and the concomitant active therapy on the phosphorus-calcium metabolism according to the PTH, Ca, P and Ca·P values.

We controlled PTH, Ca and P during all the two years of treatment. In 6 of these patients, before and after 3 months of the therapy, we evaluated the markers of turnover bone, b-ALP and DPD, it was measured in the dialytic ultrafiltrate.

Results: At the beginning of the study 28% of the patients had a slight SHPT (PTH < 500 pg/mL), 39% had a moderate SHPT (PTH = 500-800 pg/mL) and 33% presented serious SHPT (PTH > 800 pg/mL).

The therapy with Cinacalcet caused significant reduction of the PTH and of the Ca·P product after 2 weeks by the start of the therapy (PTH basal average  $762,2 \pm 430$

pg/mL; Ca·P basal average  $60,72 \pm 12,45 \text{ mg}^2/\text{dL}^2$ ; PTH precocious  $443 \pm 318$  pg/mL; Ca·P precocious average  $46,6 \pm 12,2 \text{ mg}^2/\text{dL}^2$ ). After two years of treatment 86% of the patients has slight SHPT and the remaining other 14% has moderate SHPT: no patient has serious SHPT.

There were not adverse symptoms at the dosage of 30 mg/die, and in 2 patients returning to the initial dose, nausea and vomit regressed. Nobody was obliged to suspend the treatment for hypocalcemia.

Discussion: the therapy with calcimimetic (with modest dosages) is associated to the rapid, significant and persistent reduction of PTH with also a reduction of the serum levels of calcium, phosphorus and consequently of the Ca·P product.

This mechanism is due to a probably mineral flow of calcium by the bone to the blood and it is according with the reduction of the PTH and to a readapting skeletal.

This interpretation is suggested by reduction of the concentrations of the DPD and b-ALP.

## **INTRODUZIONE**

La prevalenza dell'Insufficienza Renale Cronica (IRC) è in aumento in molti dei paesi industrializzati. In Europa, per esempio, si è assistito ad un aumento tra il 1991 ed il 1999 del 4,8 % annuo. Dati simili e del tutto confrontabili provengono anche dagli Stati Uniti, confermando perciò questo trend (1). Il consistente problema socio-economico che ne deriva è legato non solo alla malattia in sé, ma anche, se non soprattutto, alle numerose complicanze che questa implica. L'IRC si associa infatti a condizioni debilitanti, quali anemia, iperparatiroidismo secondario (SHPT) e patologie cardiovascolari.

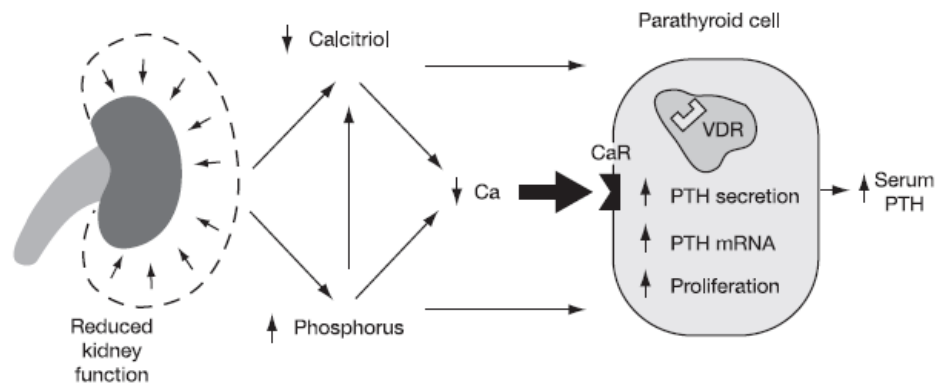
Data la complessità del quadro fisiopatologico dell'iperparatiroidismo secondario, è chiaro che una miglior comprensione della sua patogenesi potrà portare non solo ad un più efficace management della terapia già esistente, ma potrà apportare modificazioni sostanziali a quest'ultima.

L'allungamento notevole della vita dei pazienti uremici (dovuto alle attuali terapie dietetico-farmacologiche) ha portato al manifestarsi di alterazioni organiche dovute alla condizione uremica a carico soprattutto di due apparati: quello cardiocircolatorio e quello scheletrico. Gli ultimi sforzi nella ricerca farmacologica si sono pertanto dati come obiettivo la ricerca di nuovi mezzi per contrastare la compromissione dello stato di salute che inevitabilmente risulta a rischio in questi pazienti.

L'iperparatiroidismo secondario caratterizza sin dalle prime fasi il decorso dell'insufficienza renale cronica e riconosce i suoi momenti patogenetici in numerose alterazioni (fig. 1):

- alterata biodisponibilità della Vitamina D, il calcitriolo;
- bilancio tendenzialmente negativo del calcio;
- ritenzione di fosfati;

- ridotta risposta del tessuto osseo all'effetto calcemizzante del paratormone (PTH) (2).



**Figura 1.** Patogenesi dell'iperparatiroidismo secondario

Sebbene evidenti segni clinici di malattia ossea siano presenti prima della dialisi in meno del 10% dei pazienti con insufficienza renale terminale ( End Stage Renal Disease, ESRD), anomalie radiologiche si osservano nel 35% e anomalie istologiche in ben il 90% di tali pazienti.

È possibile osservare due tipi principali di disturbi ossei nei pazienti con insufficienza renale terminale: l'osteodistrofia a elevato turnover, nota come *osteite fibroso-cistica*; e uno stato a basso turnover caratterizzato inizialmente da osteomalacia e quindi da *osteopatia adinamica* (fig. 2). Nell'osteite fibrosa il numero e le dimensioni degli osteoclasti risultano aumentati, come pure il numero e la profondità delle lacune di riassorbimento osteoclastico. La deposizione del collagene appare meno ordinata, il rimaneggiamento osseo risulta così notevolmente aumentato. Nell'osteomalacia la velocità di mineralizzazione è inferiore a quella di sintesi del collagene; ne risultano un eccessivo accumulo di matrice osteoide non mineralizzata e aree osteoidi di spessore aumentato.



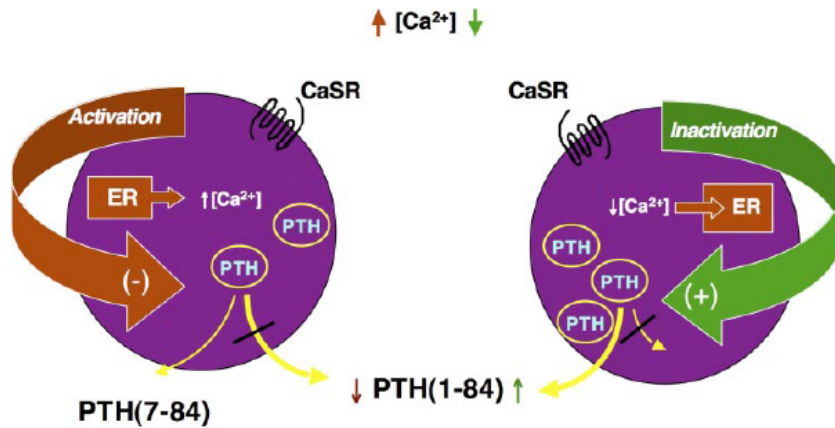
ottenuto a spese di un impatto negativo sull'apparato cardio-vascolare. Questo a causa di uno scarso controllo dell'iperfosforemia e di una più spiccata tendenza ad un bilancio positivo del calcio (5). Sulla base di tali presupposti le linee guida prodotte dalla National Kidney Foundation hanno posto una particolare enfasi sul controllo non solo dei livelli di PTH (valori raccomandati tra 150 e 300 pg/mL di PTH intatto), ma anche di quelli del calcio e del fosforo (valori raccomandati tra 8,4 e 9,5 mg/dL per il calcio e tra 3,5 e 5,5 mg/dL per il fosforo) (6). Di fatto, comunque, il raggiungimento di questi target appare oggi abbastanza problematico. Nell'ultimo decennio l'avanzamento della scienza ha portato risultati considerevoli anche nel campo dello studio dei meccanismi che controllano la secrezione del PTH e nella produzione di nuovi composti in grado di interagire con tali meccanismi, aprendo nuove strade al trattamento dell'HPT secondario.

## PARATORMONE (PTH): FISILOGIA E FISIOPATOLOGIA DELL' SHPT

### Struttura e fisiologia

Il PTH è un peptide di 84 aminoacidi a singola catena. La sequenza aminoacidica è stata caratterizzata in diversi mammiferi ed è stata rilevata una conservazione della porzione aminoterminale che risulta determinante per molte azioni biologiche della molecola. Frammenti sintetici della sequenza aminoterminale, anche piccoli al punto di contenere solo i residui aminoacidici 1-14, sono in grado di attivare la maggior parte dei recettori.

La funzione principale del PTH è quella di mantenere la concentrazione di calcio nel liquido extracellulare entro uno stretto intervallo di normalità (fig. 3).



**Figura 3.** Funzione del Ca sulle paratiroidi (*Am J Phys Renal Phys.* 290: 2006)

L'ormone agisce direttamente sul tessuto osseo e sul rene e indirettamente sull'intestino, agendo sulla sintesi dell' 1,25(OH)<sub>2</sub>D. L'azione combinata su rene osso e intestino porta all'aumento della calcemia con riduzione della fosforemia. Il risultato è l'aumento della concentrazione sierica del calcio; si evince quindi che la produzione di PTH è strettamente regolata dalla concentrazione sierica del calcio ionizzato e del fosforo. Qualsiasi tendenza all'ipocalcemia, come nel caso di una dieta povera di calcio, è contrastata da un aumento della secrezione di PTH. A sua volta il PTH ha i seguenti effetti:

1. aumenta la velocità di riassorbimento osseo, aumentando quindi l'afflusso del calcio dall'osso al sangue;
2. riduce la clearance renale del calcio, aumentando il riassorbimento tubulare a livello distale del catione filtrato dal glomerulo con meccanismo Tm dipendente;
3. incrementa l'efficienza dell'assorbimento intestinale di calcio.

Nel rene il PTH agisce inibendo il trasporto dei fosfati a livello del tubulo contorto prossimale, aumentando il riassorbimento del calcio a livello del tubulo contorto distale, e, infine, stimolando l'attività della 25(OH)D-1 $\alpha$ -idrossilasi renale.

Il ruolo omeostatico dell'ormone è in grado di mantenere la calcemia costante a scapito di una decostruzione ossea anche in condizioni critiche.

### Biosintesi, secrezione e metabolismo

Il PTH è inizialmente sintetizzato come una molecola più grande (preparatormone di 115 aminoacidi) che viene poi ridotta di dimensioni mediante scissione (paratormone di 90 aminoacidi), prima di essere infine secreta come peptide di 84 aminoacidi. Le regioni idrofobiche del preparatormone sono importanti nel ruolo del trasferimento del polipeptide dai siti di sintesi sui poliribosomi fino ai granuli di secrezione attraverso il reticolo endoplasmatico. Ciò è evidente in un particolare tipo di ipoparatiroidismo in cui è presente una mutazione nella regione genica relativa alla preproteina che interrompe la sequenza idrofobica e interferisce così con la secrezione dell'ormone.

Quando la concentrazione di calcio scende dai valori normali ad un range compreso tra 1,9 e 2 mmol/L, la secrezione di PTH aumenta rapidamente fino a cinque volte il valore di base. I livelli di calcemia controllano la secrezione di PTH attraverso l'interazione con un recettore sensibile al calcio (CaR). Si tratta di un recettore accoppiato alla proteina G per il quale il calcio (ma non solo) agisce da ligando (*vide infra*).

Una volta secreto il PTH viene rapidamente ed efficacemente metabolizzato. La sua proteolisi si realizza prevalentemente a livello epatico e renale. Il metabolismo periferico del PTH non sembra influenzato da condizioni fisiologiche (calcemia elevata o bassa ecc.); pertanto, il metabolismo periferico dell'ormone, sebbene sia

responsabile della clearance rapida dell'ormone secreto, sembra essere un processo catabolico a elevata capacità, metabolicamente costante.

### Alterata degradazione del PTH

L'iperincretione è sicuramente il fattore maggiormente responsabile dei livelli elevati di PTH in corso di IRC. Tuttavia, vi è un alterato catabolismo che contribuisce all'aumento del PTH, non tanto della molecola intatta, quanto dei suoi cataboliti. Il PTH viene secreto dalle paratiroidi principalmente come molecola intatta (iPTH, peptide costituito da 84 aminoacidi, PM 9,5 kD), tuttavia le paratiroidi possono secernere anche frammenti carbossi-terminali (frammenti 37-84 e 34-84) in quantità variabile a seconda della presenza di ipo- o ipercalcemia. Il PTH intatto, una volta secreto, viene rapidamente degradato in frammenti: da un lato si ritrovano i carbossi-terminali e dall'altro gli amino-terminali (frammento 1-34). I principali tessuti periferici deputati a questa azione catabolica sono fegato e rene.

Il frammento amino-terminale 1-34, come la molecola intatta, è in grado di legarsi al recettore e attivarlo, ma anch'esso viene rapidamente degradato, avendo una emivita di soli 4-5 minuti. I frammenti carbossi-terminali invece non sono attivi sui recettori, ma sono essenziali per il trasporto e la secrezione dell'ormone; avendo inoltre una emivita più lunga (15-60 minuti) della molecola intatta e del frammento N-terminale, sono i frammenti quantitativamente predominanti in circolo. Il fegato, a differenza del rene, degrada efficacemente il PTH intatto, ma ha scarsa capacità di degradare i frammenti, per cui nell'insufficienza renale cronica c'è un aumento dei livelli plasmatici di PTH costituiti principalmente dai frammenti C-terminali.

### Peptide correlato all'ormone paratiroideo (PTHrP)

Il fattore paracrino chiamato PTHrP è responsabile nella maggior parte dei casi di ipercalcemia secondaria a neoplasie, una sindrome che assomiglia all'HPT. Molti

tipi di cellule producono il PTHrP, comprese quelle cerebrali, del pancreas, del cuore, del polmone, del tessuto mammario, della placenta, endoteliali e muscolari lisce.

Il PTH e il PTHrP, sebbene siano due prodotti distinti di differenti geni, mostrano notevoli omologie funzionali e strutturali, e potrebbero derivare da un comune gene ancestrale. Comunque il gene del PTHrP umano è molto più complesso di quello del PTH, contendendo numerosi esoni e numerosi siti per sequenze alternative di *splicing* durante la sintesi dell'mRNA.

Non è certo che nei soggetti normali il PTHrP sia presente in circolo a livelli significativi; il PTHrP potrebbe essere prodotto, svolgere la sua azione e quindi essere distrutto localmente nei tessuti, come un fattore paracrino.

Nei soggetti adulti il PTHrP sembra avere scarsi effetti sull'omeostasi del calcio, tranne che in condizioni patologiche come in presenza di un tumore esteso, in particolare del tipo *a cellule squamose*, che può determinare la produzione di enormi quantità di questo ormone.

## Ipocalcemia

L'ipocalcemia cronica è una condizione di riscontro meno comune rispetto l'ipercalcemia; le cause sono comunque molteplici e riguardano tutte direttamente o indirettamente il PTH (tab. I).

### ***Tabella I. Classificazione funzionale dell'ipocalcemia***

#### **Paratormone assente**

- ipoparatiroidismo ereditario
- ipoparatiroidismo acquisito
- ipomagnesiemia

### **Paratormone inefficace**

- insufficienza renale cronica
- deficit di vitamina D attiva
- inefficacia della vitamina D attiva
- pseudoipoparatiroidismo

### **Paratormone soppresso**

- iperfosfatemia grave e acuta
- osteite fibrosa postparatiroidectomia

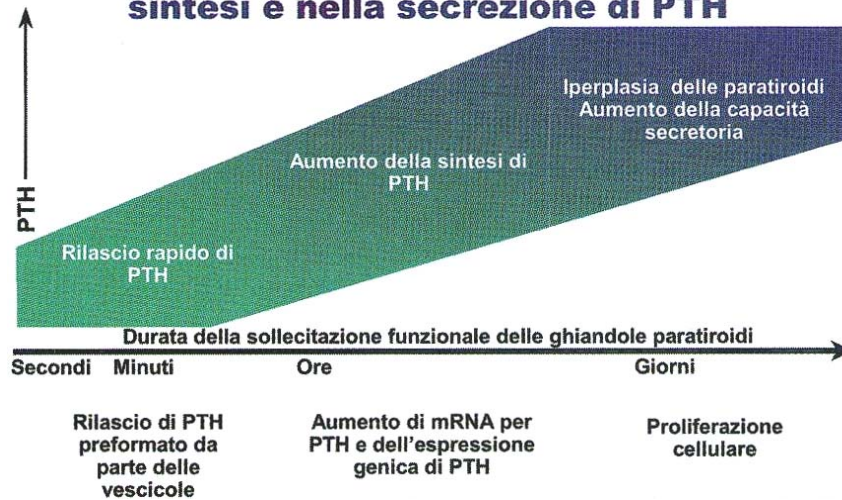
L'ipocalcemia cronica è solitamente sintomatica e richiede un tempestivo trattamento medico.

I sintomi neuromuscolari comprendono gli spasmi muscolari, lo spasmo carpopedale e le smorfie del viso; si può anche verificare in casi gravi un arresto respiratorio. I cambiamenti comportamentali, invece, comprendono irritabilità, depressione e psicosi. L'intervallo Q-T all'elettrocardiogramma è di solito allungato, esattamente al contrario di quello che accade in caso di ipercalcemia.

Una ipocalcemia che si protrae nel tempo determina un adattamento da parte delle paratiroidi che si manifesta infine con l'ipertrofia e l'iperplasia delle cellule ghiandolari, indipendentemente dalla presenza o meno di deficit di Vitamina D. Elevati livelli calcemici riducono, sia in vivo che in vitro, l'espressione dell'mRNA per il prepro-PTH, mentre l'ipocalcemia è uno stimolo per la sua espressione.

Gli effetti che la concentrazione del calcio ematico ha sulle paratiroidi variano comunque in funzione del tempo (fig. 4).

### La risposta paratiroidea a una sollecitazione prolungata: ruolo critico di CaR e VDR nella sintesi e nella secrezione di PTH



*Figura 4. Risposta paratiroidea alla sollecitazione prolungata*

L'ipocalcemia:

- aumenta la concentrazione del paratormone nel plasma in pochi minuti determinandone la liberazione dai granuli citoplasmatici (PTH preformato);
- aumenta la sintesi del PTH (in ore o giorni) con un meccanismo post-trascrizionale, grazie al quale aumentano i livelli intracellulari di mRNA per il prepro-PTH; l'azione è mediata da specifiche proteine del citosol ("PTH mRNA-binding proteins"), che hanno effetto stabilizzante l'mRNA riducendone quindi la degradazione;
- determina se l'effetto è protratto (settimane) un aumento del numero di cellule paratiroidi, cioè una vera e propria iperplasia.

Nell'iperparatiroidismo secondario si potrebbe pensare che livelli di calcemia persistentemente elevati mettano al riparo dall'insorgenza dell'iperparatiroidismo stesso, invece è stato dimostrato che l'SHPT può svilupparsi anche in presenza di lieve ipercalcemia cronica indotta da supplementi di calcio esogeni (4).

## Ritenzione dei fosfati

Nel soggetto sano l'eccesso di apporto di fosforo viene eliminato attraverso le urine o immagazzinato nell'osso. Quando invece la funzione renale comincia ad essere compromessa si assiste all'accumulo del fosforo nel compartimento ematico con una conseguente alterazione dell'omeostasi minerale e del turnover osseo. Il trattamento dialitico è in grado di ridurre la concentrazione sierica del fosforo del 70%, la maggioranza dei pazienti presenta quindi un elevato tasso di fosforemia (livelli > 1,8 mmol/L, o 5,6 mg/dL).

L'iperfosfatemia è un aspetto tipico dello stato avanzato di insufficienza renale. Le concentrazioni sieriche del fosforo aumentano in pazienti con  $GFR < 20$  mL/min, ma la ritenzione di fosfati può essere dimostrata in studi di bilancio anche in condizioni di minore declino del GFR. Il fosfato trattenuto rappresenta una causa importante per lo sviluppo dell'iperparatiroidismo secondario in corso di IRC. I fosfati esercitano infatti effetti indiretti sulla secrezione di PTH riducendo la produzione renale del calcitriolo (attraverso l'inibizione dell' $1\alpha$ -idrossilasi) e i livelli di calcio ionizzato plasmatico. Studi recenti suggeriscono anche un ruolo stimolante diretto del fosforo a livello della ghiandola paratiroide, in assenza di variazioni di calcio sierico o dei livelli di calcitriolo.

Nella fase iniziale dell'insufficienza renale l'iperfosfatemia transitoria, inducendo una temporanea riduzione della calcemia ionizzata, causa un'aumentata secrezione del PTH da parte delle paratiroidi. L'ormone a sua volta determina la riduzione del riassorbimento tubulare dei fosfati con conseguente iperfosfaturia e quindi normalizzazione della fosfatemia.

Nell'iperfosfatemia a lungo termine si verifica al contrario una lieve ipocalcemia con aumento del PTH e iperplasia paratiroidea. In particolare, nell'insufficienza renale

cronica (in uno stadio avanzato) si può assistere alla ritenzione dei fosfati in risposta ad una loro ridotta eliminazione dovuta ad una funzionalità renale diminuita.

Riassumendo quindi, la ritenzione di fosfati può indurre l'iperparatiroidismo con diversi meccanismi:

- riducendo la calcemia ionizzata per formazione di cristalli di fosfato di calcio;
- inibendo l'attività dell'1  $\alpha$ -idrossilasi renale, enzima responsabile della conversione del 25(OH)Vitamina D<sub>3</sub> nel metabolita attivo, l'1,25(OH)<sub>2</sub> Vitamina D<sub>3</sub>;
- riducendo la risposta calcemica al PTH e contribuendo all'ipocalcemia;
- stimolando direttamente la secrezione di PTH.

L'aumento del PTH si associa ad una maggiore quantità di mRNA per il prepro-PTH, dovuta all'effetto del fosforo su proteine specifiche del citosol che hanno azione stabilizzante l'mRNA, stimolando la proliferazione delle cellule paratiroidee.

### Resistenza scheletrica al PTH

Nei pazienti con insufficienza renale cronica moderata, e tanto più in quella avanzata, è stata documentata una ridotta risposta calcemica al PTH. La resistenza scheletrica all'azione calcemizzante del PTH favorisce lo sviluppo dell'SHPT attraverso l'ipocalcemia.

I fattori coinvolti nella ridotta risposta ossea al PTH sono:

1. la ritenzione dei fosfati;
2. la riduzione dei livelli plasmatici di calcitriolo;
3. la down-regulation dei recettori del PTH;
4. l'uremia di per sè e la calcitonina.

## Alterato metabolismo della Vitamina D e resistenza al calcitriolo

Il deficit assoluto o relativo di calcitriolo gioca un ruolo chiave nello sviluppo dell'iperparatiroidismo secondario nelle fasi iniziali dell'insufficienza renale cronica.

I livelli plasmatici di calcitriolo tendono a ridursi, infatti, già precocemente nel corso dell'insufficienza renale cronica.

La precisa causa della ridotta sintesi di calcitriolo non è chiara. E' stato ipotizzato che l'aumento intracellulare di fosforo, a livello del tubulo prossimale, (conseguente all'aumento del carico filtrato) possa ridurre l'attività dell'enzima  $1\alpha$ -idrossilasi, responsabile della conversione della 25(OH)Vitamina D<sub>3</sub> nel metabolita attivo, l'1,25(OH)<sub>2</sub>Vitamina D<sub>3</sub> (7).

Recentemente si è supposto che la ridotta sintesi di calcitriolo possa dipendere da un ridotto riassorbimento tubulare prossimale del complesso 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-DBP (Vitamina D binding protein) che viene filtrato a livello glomerulare e riassorbito nel tubulo prossimale per azione di un recettore cellulare specifico (la megalina). Il ridotto riassorbimento tubulare ridurrebbe a livello cellulare tubulare la disponibilità di substrato per la sintesi di calcitriolo.

La ridotta sintesi di calcitriolo determina l'aumento del PTH con meccanismo diretto e indiretto (riduzione dell'assorbimento intestinale di calcio e conseguente tendenza all'ipocalcemia).

Il calcitriolo esercita un feed-back negativo diretto sulle paratiroidi attraverso diversi meccanismi:

### Inibizione della sintesi del PTH

Studi in vivo e in vitro hanno documentato che il calcitriolo sopprime direttamente la sintesi del PTH inibendo la trascrizione dell' mRNA per il prepro-PTH.

La riduzione dei livelli plasmatici di calcitriolo comporta un aumento della sintesi di PTH. L'azione biologica del calcitriolo è mediata dall'interazione con un recettore cellulare, il recettore per la Vitamina D (VDR), che è un peptide di 427 aminoacidi. Il VDR ha due siti, uno legante l'ormone e uno responsabile del legame con il DNA. Il complesso calcitriolo-DNA interagisce con una proteina nucleare, il "retinoid X receptor" (RXR) e si lega a una regione specifica del DNA ("Vitamin D responsive element", VDRE), dove si trovano i geni attivati dalla Vitamina D, determinando effetti diversi a seconda dell'organo bersaglio. I VDR si riscontrano in diversi tessuti, tra cui gli osteoblasti, le cellule tubulari renali, quelle intestinali e le cellule paratiroidi. A livello intestinale il calcitriolo induce un aumento dell'assorbimento di calcio e fosforo, a livello osseo aumenta la formazione e il riassorbimento osseo, a livello paratiroideo riduce la trascrizione dell'mRNA per il prepro-PTH.

#### Regolazione dell'espressione dei recettori per la vitamina D (VDR)

La densità dei VDR nelle cellule paratiroidi è ridotta nei pazienti con insufficienza renale cronica. L'espressione dei recettori è regolata dai livelli plasmatici di calcitriolo, nel senso che aumenta con l'aumento dei livelli plasmatici (up-regulation) e si riduce con la riduzione dei livelli plasmatici (down-regulation). La terapia con calcitriolo aumenta il numero di recettori nelle cellule paratiroidi e intestinali dei ratti uremici, aumentando la sintesi dell'mRNA per il VDR. Anche la dieta ad alto contenuto calcico aumenta l'espressione dei VDR, mentre la dieta ipocalcica la riduce.

Pertanto l'effetto dei livelli plasmatici di calcio e calcitriolo nel regolare l'espressione dei VDR è sinergico e ciò ha evidenti implicanze terapeutiche.

#### Inibizione della proliferazione delle cellule paratiroidi

Nell'insufficienza renale cronica l'iperplasia paratiroidea è costantemente associata a iperincrezione di PTH. L'aumento della massa paratiroidea è dovuta principalmente ad un'aumentata proliferazione cellulare, cui corrisponde un aumento del numero delle cellule più che una ipertrofia cellulare (condizione di iperplasia).

La dieta ipocalcica, la dieta iperfosforica e la dieta carente in Vitamina D stimolano la proliferazione delle cellule paratiroidee, mentre la dieta ipofosforica la inibisce.

Il riscontro, nelle fasi iniziali dell'insufficienza renale cronica, di normali livelli plasmatici di calcitriolo con PTH aumentato fa supporre l'esistenza di un certo grado di resistenza alla Vitamina D. La resistenza al calcitriolo nell'insufficienza renale cronica può essere ricondotta alla ridotta espressione dei VDR e alla riduzione della capacità di legame tra il complesso calcitriolo-VDR e il VDRE, verosimilmente dovuta all'effetto delle tossine uremiche.

Tutti i fattori sopra elencati stimolano il rilascio di PTH, determinano alterazioni anatomico-funzionali importanti come anomalie delle ghiandole paratiroidee, l'alterazione del set-point per il calcio, l'alterata degradazione del PTH e la modificazione dei recettori per il calcio.

### Alterazioni anatomico-funzionali delle ghiandole paratiroidee

Dal punto di vista anatomico-patologico si distinguono, in base all'aspetto iperplastico, quattro tipi di iperplasia paratiroidea:

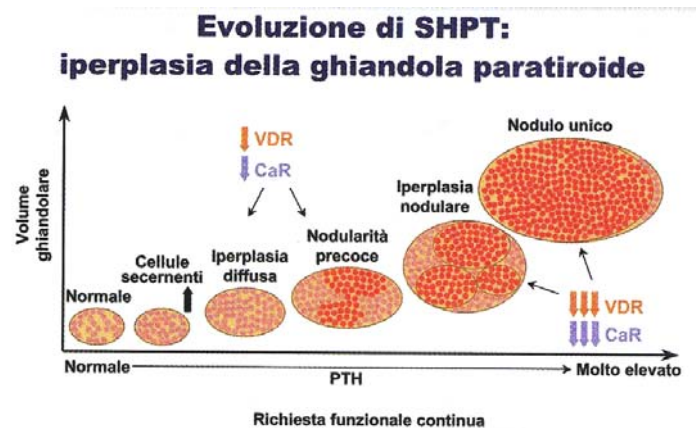
- iperplasia diffusa, tipica delle fasi iniziali dell' SHPT;
- iperplasia diffusa con nodularità iniziale;
- iperplasia nodulare;
- nodulo singolo.

Il pattern di crescita delle ghiandole paratiroidee varia in funzione del momento patogenetico della malattia. Infatti nelle primissime fasi dell'insufficienza renale

cronica si assiste ad una proliferazione cellulare di tipo policlonale, mentre con il progredire della patologia, cioè quando ormai si è instaurata una condizione di iperparatiroidismo avanzato, la proliferazione è frequentemente multiclonale o addirittura monoclonale.

La proliferazione cellulare è inoltre caratterizzata da un pattern topografico di crescita: si ritrovano infatti generalmente espansioni policlonali nelle aree di iperplasia diffusa, e monoclonali nei noduli, ed è più intensa nel tessuto iperplastico nodulare che in quello con iperplasia diffusa.

È interessante osservare che nelle aree ghiandolari con iperplasia nodulare la densità dei recettori per la Vitamina D (VDR) e per il calcio (CaR) è ridotta rispetto alle aree di iperplasia diffusa. C'è inoltre una correlazione negativa tra grado di proliferazione cellulare e densità dei VDR e CaR (8) (fig. 5)



*Figura 5. Iperplasia delle ghiandole paratiroidee*

### Alterazione del set-point del calcio

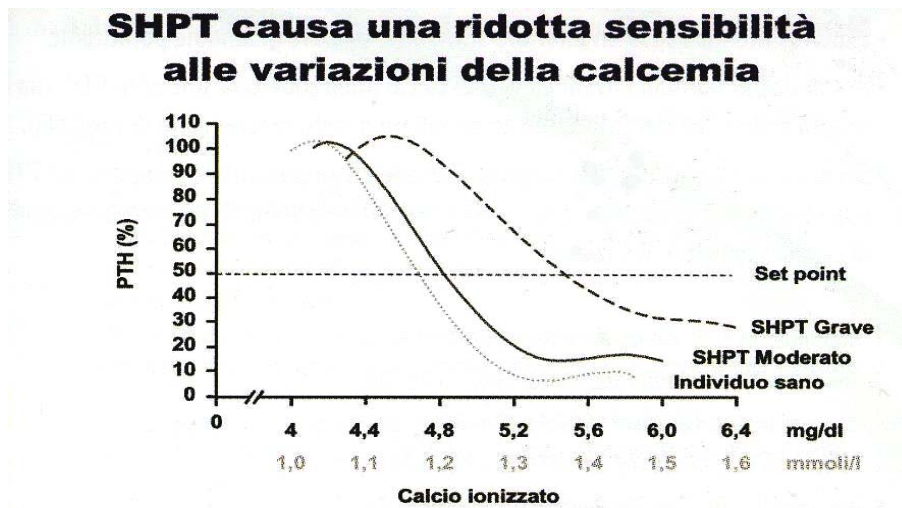
Mayer and Hurst per primi dimostrarono l'esistenza di una relazione di tipo sigmoideale tra calcemia e PTH plasmatico (9). I loro risultati evidenziano che le paratiroidi rispondono a modeste variazioni della calcemia in pochi minuti: un

incremento acuto della calcemia inibisce la secrezione di PTH, fino ad arrivare a una massima inibizione (PTH minimo), oltre la quale ulteriori aumenti della calcemia non inducono un'ulteriore riduzione del PTH plasmatico; al contrario, la progressiva riduzione della calcemia determina un aumento della secrezione di PTH fino al raggiungimento di un plateau (PTH massimo), oltre il quale ulteriori riduzioni della calcemia non aumentano ulteriormente il PTH plasmatico.

Il set-point del calcio è il livello di calcemia che determina la riduzione del PTH massimo del 50% o, secondo un'altra definizione, il livello di calcemia intermedio tra il PTH massimo e minimo, in un soggetto normale.

Nei pazienti con iperparatiroidismo secondario la curva calcio-PTH è spostata a destra rispetto al normale e il set-point per il calcio è aumentato, per cui sono necessari livelli di calcemia più elevati, rispetto al soggetto normale, per sopprimere la secrezione di PTH.

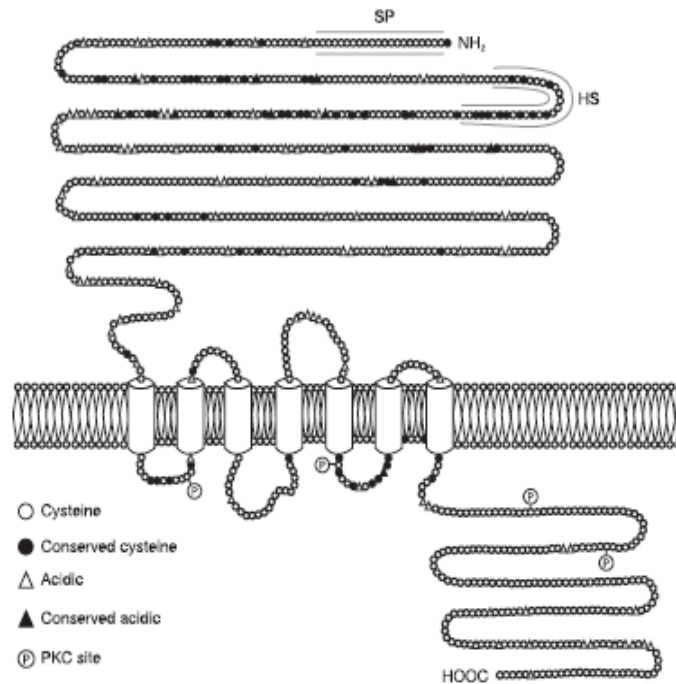
Con il peggioramento dell'iperparatiroidismo e con l'aumento della massa paratiroidea si riduce la sopprimibilità del PTH in presenza di ipercalcemia (aumenta il PTH minimo, cioè la secrezione non sopprimibile di PTH) e si riduce la sensibilità della ghiandola paratiroidea alle variazioni di calcemia, per cui sono necessari livelli più elevati di calcemia, rispetto al normale, per sopprimere la secrezione di PTH (fig. 6). In base ai dati della letteratura si può affermare che le alterazioni della relazione calcemia-PTH e del set-point del calcio compaiono tardivamente nel corso dell'insufficienza renale cronica e contraddistinguono pazienti con iperparatiroidismo avanzato (10).



*Figura 6. Ridotta sensibilità delle paratiroidi alla calcemia*

## IL RECETTORE SENSIBILE AL CALCIO (CaR)

Il recettore sensibile al calcio (CaR) appartiene alla famiglia dei recettori associati alle proteine G. La sua peculiarità, rispetto agli altri membri di questa famiglia, risiede nella presenza di un vasto dominio N-terminale extracellulare (612 aminoacidi) e di un più piccolo dominio C-terminale intracellulare (250 aminoacidi) (fig. 7).



**Figura7. Struttura del CaR**

La presenza di questo recettore è ubiquitaria, infatti si può ritrovare non solo nella membrana citoplasmatica delle cellule paratiroidee, ma anche in numerosi altri distretti come rene, intestino ecc. (tab. III).

Il controllo dei livelli del calcio sierico, e quindi tutto il processo di omeostasi di questo elemento, è però affidato solamente al CaR presente nelle paratiroidi e in parte a quello presente a livello della membrana baso-laterale della porzione sottile ascendente dell'ansa di Henle.

**Tabella III. Sistemi cellulari che esprimono il CaR**

**Cellule coinvolte nella secrezione degli ormoni calciotropi**

- cellule paratiroidee
- cellule C della tiroide

**Cellule coinvolte in sistemi di trasporto transcellulare del calcio**

- cellule epiteliali intestinali
- cellule tubulari renali

- osteoblasti e osteoclasti

#### **Altri tessuti**

- SNC
- polmoni
- placenta
- mammella
- cellule epidermiche
- adipociti
- etc...

Questo recettore, in realtà, nonostante la sua denominazione non è specifico per il calcio ma possiede affinità anche per altri cationi divalenti o trivalenti come per esempio il magnesio, l'alluminio, il gadolinio. È però da sottolineare che la maggior affinità di legame viene comunque detenuta dal calcio che a buon merito è il principale modulatore della funzione del CaR.

L'attivazione del recettore sulla membrana delle cellule paratiroidi da parte del  $\text{Ca}^{2+}$  porta all'attivazione di numerosi secondi messaggeri con un processo a cascata che termina con l'inibizione della produzione e secrezione dell'ormone paratiroideo (PTH). Questo complesso processo prevede l'attivazione della fosfolipasi C (PLC) attraverso la proteina G (probabilmente  $G_q$  o  $G_{11}$ ) e quindi indirettamente l'attivazione della fosfolipasi  $A_2$  ( $\text{PLA}_2$ ). La  $\text{PLA}_2$  agisce poi sui fosfolipidi di membrana rilasciando Acido Arachidonico: saranno poi i metaboliti di questo, i leucotrieni, ad inibire direttamente la secrezione del PTH.

Tutti gli elementi che sono in grado di intraprendere rapporti con il dominio extracellulare del CaR, e che possono quindi stimolarlo, vengono definiti *calcimimetici di tipo I* (tab. IV). Altri agenti possono invece contrarre rapporti con la parte intramembranosa del recettore causando così un cambiamento conformazionale

ed un'aumentata affinità per il  $\text{Ca}^{2+}$ . Questi modulatori allosterici del CaR vengono comunemente chiamati *calciomimetici di tipo II*.

**Tabella IV. Gli agonisti del calcio (calciomimetici di tipo I)**

**Cationi inorganici**

- Agonisti forti → range submicromolare-micromolare  
Es.  $\text{Gd}^{3+}$   $\text{La}^{3+}$
- Agonisti di media forza → range submillimolare-millimolare  
Es.  $\text{Ca}^{2+}$   $\text{Ba}^{2+}$   $\text{Gd}^{2+}$   $\text{Sr}^{2+}$   $\text{Cd}^{2+}$   $\text{Pb}^{2+}$
- Agonisti deboli → range millimolare elevato  
Es.  $\text{Mg}^{2+}$   $\text{Fe}^{3+}$   $\text{Ga}^{2+}$   $\text{Na}^+$

**Cationi organici**

- Poliamine
- Spermine>spermidina>>putrescina

**Polipeptidi basici**

- Poli-L-arginina
- B-amiloide

**Aminoacidi**

- Aromatici>neutri>acidi>basici>ramificati

**Antibiotici aminoglicosidici**

- Neomicina-B, neomicina-C
- Gentamicina, tobramicina
- Kanamicina

Il recettore sensibile al calcio riveste notevole importanza anche nella patogenesi di numerose malattie di carattere genetico. Mutazioni del gene del CaR sono infatti associate a diversi quadri patologici, come per esempio l'*ipercalcemia ipocalciuria familiare (FHH)* in cui i pazienti presentano una moderata ipercalcemia associata ad un livello normale o ai limiti di norma del PTH, e l'*iperparatiroidismo severo neonatale (NSHPT)* in cui i pazienti presentano sin dalla nascita elevate

concentrazioni di calcemia associate ad elevati valori di PTH, iperplasia paratiroidea e patologia ossea. Questo quadro particolarmente grave spesso porta il paziente all'*exitus*.

Come si è già detto, il CaR è espresso a livello di numerosi tessuti (tabella III), anche se attualmente non si è ancora in grado di definire con chiarezza il ruolo che possiede in tutte queste sue eterogenee localizzazioni.

Uno tra i sistemi cellulari meglio studiati è quello paratiroideo dove gli effetti della stimolazione del CaR sono stati ben definiti.

A questo livello il principale effetto è rappresentato dalla riduzione della secrezione del PTH preformato contenuto nei granuli intracellulari; questa inibizione è la fisiologica risposta all'aumento del calcio intracellulare conseguente all'attivazione della PLC e quindi alla formazione dell'inositolo 3-P (IP<sub>3</sub>).

Una stimolazione prolungata nel tempo del CaR è inoltre in grado di indurre una ridotta trascrizione dell'mRNA del PTH (nell'arco di ore-giorni) e nell'arco di giorni o settimane una riduzione degli eventi proliferativi cellulari (75).

## QUADRI PATOLOGICI LEGATI ALL'IPERPARATIROIDISMO SECONDARIO

Innanzitutto deve essere ricordato che non tutti i pazienti uremici sono affetti da iperparatiroidismo secondario. Questo dato, illustrato da numerosi studi, e naturalmente dall'evidenza clinica, diviene particolarmente importante alla luce delle innumerevoli complicazioni che l'SHPT comporta. Gupta *et al.* esaminò i livelli sierici di PTH in funzione di fattori quali razza, sesso, età, e associazione con diabete mellito. Fu quindi dimostrato come fattori estrinseci potessero influenzare la comparsa o meno dell'SHPT. Particolarmente interessante è notare come la razza di appartenenza risulti un fattore determinante.

L'iperparatiroidismo secondario insorge infatti molto più frequentemente in pazienti uremici neri rispetto agli indoeuropei, ed inoltre i pazienti neri presentano valori sierici di PTH maggiormente elevati rispetto a campioni confrontabili di pazienti bianchi. Una possibile spiegazione risiede nel fatto che la pigmentazione scura della pelle porta ad una minor sintesi di 25(OH)Vitamina D in risposta all'esposizione alla luce solare, con conseguente aumento della massa delle paratiroidi nella popolazione nera.

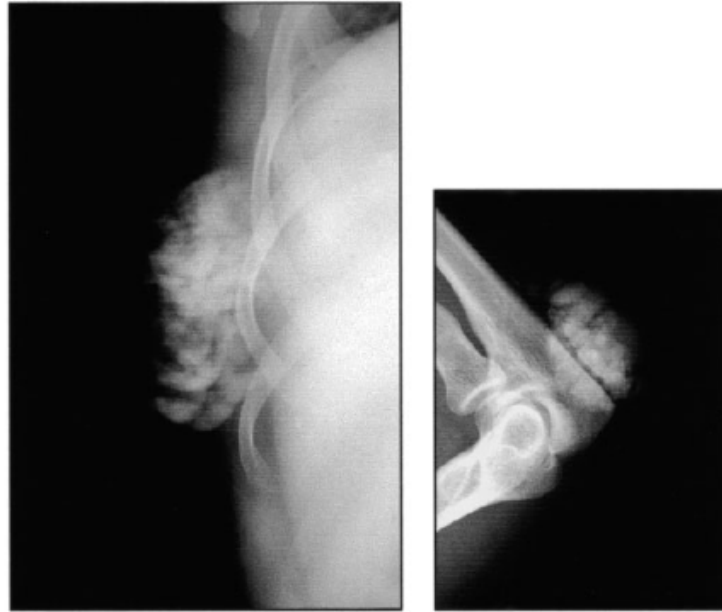
Di seguito sono riportati i quadri patologici più frequentemente associati all'iperparatiroidismo secondario.

### Osteodistrofia renale

La componente dell'osteodistrofia renale dovuta alla perdita di massa ossea normalmente calcificata è un'importante causa di morbidità nei pazienti emodializzati. Fattori di rischio per la comparsa di osteopenia in pazienti con osteodistrofia sono: SHPT, carenza di  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , acidosi cronica, amenorrea secondaria, esposizione cronica all'alluminio. Uno studio di Atsumi *et al.* evidenzia la relazione tra osteopenia e fratture vertebrali in pazienti maschi sottoposti ad emodialisi. La popolazione femminile è stata esclusa dallo studio per il ruolo che la menopausa ha sulla densità ossea. La prevalenza di fratture vertebrali fu trovata più alta a tutte le età nei pazienti emodializzati rispetto al campione di uomini sani. In aggiunta la deficienza di Vitamina D risulta essere anche un fattore di rischio autonomo per l'insorgenza di patologie ossee.

### Calcificazione ectopiche

Elevati livelli di calcio e fosforo nel siero possono portare, nel tempo, alla formazione di calcificazioni ectopiche (fig. 8).



**Figura 8.** Calcificazioni toraciche e del gomito (*Nephrol Dial Trans* 2003)

L'iperfosfatemia, per esempio, si associa con la deposizione di cristalli di fosfato di calcio nei tessuti molli, nelle valvole cardiache e nelle regioni periarticolari. In accordo con questo dato, molti studi osservazionali hanno messo in evidenza un legame tra un elevato prodotto calcio-fosforo (Ca·P) e lo sviluppo di calcificazioni vascolari e/o valvolari.

Importanti calcificazioni ectopiche sono state però dimostrate anche in assenza di iperfosfatemia, e un recente studio ha dimostrato che un ridotto livello di *human fetuin-A (AHSG)*, una proteina extracellulare regolatrice del calcio, sia un importante fattore predittivo per mortalità cardiovascolare. Si ritiene che l'assenza della AHSG possa contribuire ad una parziale perdita dell'elasticità della parete vascolare con conseguente rigidità arteriosa.

La calcifilassi è una rara e debilitante malattia caratterizzata da calcificazioni metastatiche che progrediscono verso la necrosi ischemica dei tessuti. Compare prevalentemente nei pazienti affetti da ESRD ed iperparatiroidismo secondario.

Comunemente compaiono placche reticolate e violacee alle estremità inferiori che progrediscono in noduli e ulcere necrotiche ricoperte da escare. L'insorgenza di una condizione setticemica, secondariamente ad un'infezione di queste lesioni, è la principale causa di morte in questi pazienti. Le principali strategie terapeutiche si avvalgono dei chelanti del fosfato, della paratiroidectomia totale o subtotale e della rimozione del tessuto lesionato.

### Struttura e funzione cardiovascolare

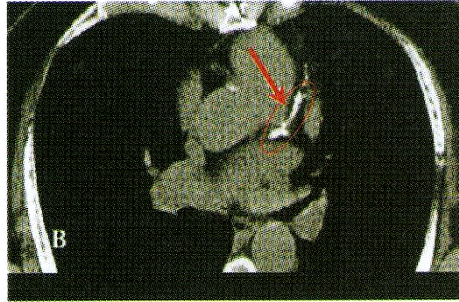
Numerosi cambiamenti nella struttura e nella funzione cardiovascolare sono di comune osservazione nei pazienti con IRC a causa degli elevati livelli circolanti di PTH.

In animali da esperimento l'esposizione acuta al PTH causa un'ipotensione (azione tossica propria dell'ormone), mentre l'esposizione cronica è causa di ipertensione sia nell'animale da laboratorio che nell'uomo. Si ipotizza che il meccanismo con il quale il PTH causi ipertensione risieda nel progressivo aumento di calcio all'interno delle cellule muscolari lisce della parete vascolare.

Elevati livelli di PTH contribuiscono anche allo sviluppo di aterosclerosi, con calcificazioni vascolari, e ischemia in pazienti con ESRD: alcuni studi suggeriscono al riguardo che elevati livelli di PTH nei pazienti affetti da IRC possano anche contribuire all'iperlipidemia (fig. 9).

Un altro fattore di rischio per mortalità cardiovascolare, nei pazienti con IRC, è la ridotta tolleranza ai carboidrati. Il meccanismo con il quale l'PTH è legato all'intolleranza nei confronti dei glucidi non è del tutto noto, ma si ritiene che elevati livelli di PTH abbassino l'ATP intracellulare nelle isole di Langerhans pancreatiche, elevando i livelli intracellulari di calcio e facendo diminuire la secrezione insulinica.

## Calcificazione cardiovascolare (CV)

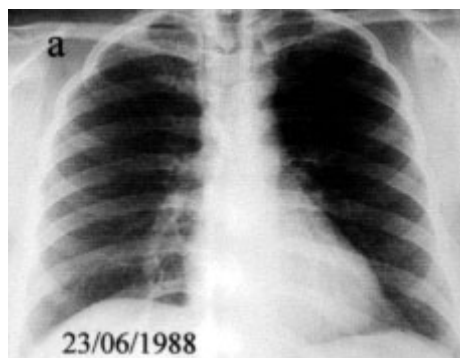


Calcificazione estesa nella porzione media e distale dell'arteria coronaria anteriore sinistra (donna di 70 anni affetta da nefropatia allo stadio terminale)

*Figura 9. Esempio di calcificazione cardiovascolare*

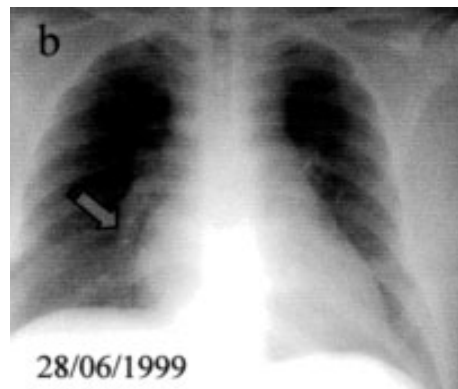
Sono stati comunque osservati elevati livelli di insulina in pazienti emodializzati con SHPT. De Fronzo *et al.* ha osservato la presenza non solo di elevati livelli di insulina in pazienti con IRC ma anche una resistenza all'ormone nei tessuti periferici. Si ipotizza anche un ruolo della Vitamina D. Infatti si è visto che l' $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  può correggere la resistenza periferica all'insulina e l'ipertrigliceridemia nei pazienti emodializzati, anche in assenza di elevati livelli sierici di PTH.

L'End Stage Renal Disease è anche associata a cambiamenti nella struttura e nella funzione del miocardio. Approssimativamente il 70% dei pazienti in trattamento cronico con emodialisi presenta ipertrofia del ventricolo sinistro (LVH) (fig. 10 A e B).



**Figura 10 A e B. Progressione della cardiomegalia in paziente emodializzato**

(*Nephrol Dial Trans* 2003)



Nella patogenesi dell'ipertrofia ventricolare legata all'ESRD sono implicate diverse condizioni, come per esempio l'ipertensione, l'anemia cronica, la fistola arterovenosa, una intercorrente patologia ischemica cardiaca e l'ipoalbuminemia. Tutti questi fattori hanno effetti indipendenti che però agendo sinergicamente possono condurre all'ipertrofia ventricolare sinistra con una conseguente associata morbilità e mortalità.

Recentemente è stato anche dimostrato il ruolo del PTH come importante cardiotossina nel corso di ESRD. Radon *et al.* ha dimostrato in uno studio come i livelli sierici di PTH siano correlati con l'insorgenza e lo sviluppo dell'ipertrofia ventricolare sinistra particolarmente in pazienti con un marcato iperparatiroidismo secondario (13).

Il meccanismo attraverso il quale il PTH porta a LVH non è ancora completamente noto. Alcuni studi hanno verificato l'aumento del calcio citosolico e l'attivazione della proteina C chinasi (PKC). Gli stessi studi suggeriscono il ruolo permissivo del paratormone sull'attivazione dei fibroblasti e sulla conseguente fibrosi del miocardio.

A conferma di ciò c'è l'osservazione della cospicua riduzione della deposizione di collagene nel miocardio in seguito a paratiroidectomia totale. Basandosi sulle conoscenze attuali, nei pazienti con insufficienza renale allo stadio precoce dovrebbe essere attentamente monitorato il PTH sierico e mantenuto entro limiti adeguati attraverso l'uso di una terapia scelta ad hoc per il singolo caso. Sembra inoltre essere importante una periodica valutazione dei parametri della geometria e della morfologia cardiaca attraverso l'impiego dell'ecocardiogramma.

## PARAMETRI BIOUMORALI

### Fosfatasi alcalina (b-ALP)

La fosfatasi alcalina ossea (b-ALP) viene utilizzata come marker di formazione osseo dal momento che presenta una buona correlazione con i parametri dinamici ossei (13). Il maggiore inconveniente deriva dal fatto che la ALP totale non presenta una elevata sensibilità e specificità, dal momento che in condizioni normali soltanto il 40-50% è di origine ossea, mentre ben il 40-50% è di origine epatica, ed una quota minore origina dall'intestino, dal rene e dalla placenta. La sensibilità della ALP può essere aumentata dosando l'isoenzima osseo (13). Questo isoenzima di origine ossea (PM 80 kD) viene prodotto dagli osteoblasti e viene degradato a livello epatico, inoltre non viene filtrato dal rene e non è dializzabile. Considerate queste sue

caratteristiche la sua concentrazione plasmatica non risente del grado di funzionalità renale.

Naturalmente la correlazione dell'isoenzima osseo con i parametri di formazione e riassorbimento osseo (superficie ossea ricoperta da osteoclasti) è migliore di quella che si ottiene rispetto la valutazione dell'ALP totale (13). La b-ALP può essere dosata con tre diverse tecniche:

1. con metodo RIA (Ostase),
2. con metodo ELISA (Alkafase)
3. con metodo elettroforetico (Isopal).

Tutti e tre i metodi si dimostrano validi per la valutazione del parametro preso in esame, anche se il metodo RIA può sovrastimare la ALP ossea (specie in caso di livelli plasmatici bassi) perché la frazione epatica interferisce, anche se modicamente, con il dosaggio. Il metodo elettroforetico è invece il più sensibile quando si debbono misurare bassi livelli plasmatici dell'isoenzima.

Livelli elevati di ALP ossea (maggiori di 80 U/L con metodo elettroforetico o maggiori di 20 ng/mL con metodo RIA) sono suggestivi di osteopatia ad alto turnover, mentre la presenza di osteopatia a basso turnover può essere sospettata per livelli inferiori a 27 U/L (metodo elettroforetico) o inferiori a 12,9 ng/mL (metodo RIA).

### Piridinolina e Desossipiridinolina (PYD e PDP)

La matrice ossea è prevalentemente costruita da molecole di collagene (circa il 90%), e più precisamente da collagene di tipo I. Il ruolo di queste molecole è particolarmente importante per garantire all'osso la forza meccanica che lo caratterizza. Questo aspetto in particolare è garantito dai legami intramolecolari e intermolecolari che le molecole presentano ("cross-link").

Il collagene di tipo I viene sintetizzato all'interno degli osteoblasti a partire dal procollagene tipo I. E' successivamente l'azione di alcune proteasi specifiche che permette la formazione della molecola finale che a sua volta potrà, attraverso la formazione dei cross-link, stabilizzarsi nella struttura ossea.

Le due principali forme di cross-link che si ritrovano a livello collagenico sono la piridinolina (PYD) e la desossipiridinolina (DPD). Queste due diverse molecole però costituiscono la cartilagine ed il tessuto osseo con diverse proporzioni. La PYD è più rappresentata nella cartilagine mentre la DPD è più abbondante nel tessuto osseo. La presenza delle piridinoline nel compartimento ematico è indice di riassorbimento osseo. Dal momento che queste molecole presentano un basso peso molecolare (400-600 D), vengono normalmente escrete nelle urine: una parte (circa il 40%) si ritrova in forma libera mentre la restante porzione (circa il 60%) è coniugata a proteine.

Generalmente nei soggetti sani le piridinoline non sono dosabili, o lo sono a dosaggi estremamente bassi. Questa è la ragione per cui la loro misurazione avviene nelle urine. Al contrario nei pazienti uremici i livelli plasmatici di PYD e DPD sono da 50 a 100 volte superiori rispetto al campione di controllo. Come è naturale pensare dopo il trattamento dialitico a cui vanno incontro questi pazienti, i livelli plasmatici si riducono e le piridinoline divengono dosabili nel dialisato.

I livelli plasmatici di PYD si presentano elevati nei pazienti affetti da iperparatiroidismo primario e osteoporosi, e addirittura molto elevati nei pazienti in trattamento dialitico. I livelli di PYD inoltre si correlano con i parametri istologici di formazione e riassorbimento osseo in modo più significativo rispetto a PTH e osteocalcina. Anche la DPD sierica mostra una buona correlazione con gli indici istologici di riassorbimento osseo.

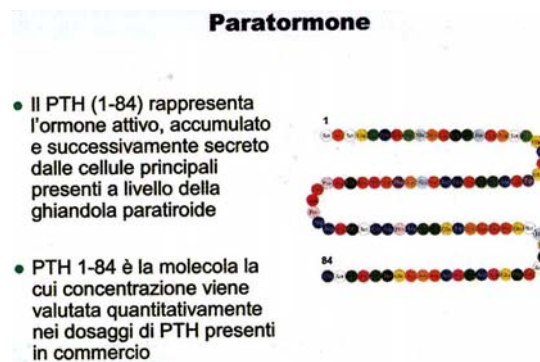
Livelli di DPD > 21 nmol/L (metodo RIA, Nichols) discriminano i pazienti con osteopatia ad alto turnover con una sensibilità dell'88% e specificità del 93%.

## Paratormone intatto (iPTH)

Il PTH intatto (iPTH) è in grado di predire con buona approssimazione il turnover osseo (fig. 11).

Nei pazienti in dialisi, un turnover normale è associato a livelli di PTH intatto compresi tra uno e quattro volte il limite superiore della norma.

I livelli di PTH >200 pg/mL hanno un valore predittivo positivo per osteopatia ad alto turnover dell'82-97%. Il potere predittivo del PTH aumenta quando si considerano solo i pazienti che non hanno accumulo osseo di alluminio.



*Figura 11. Ormone paratiroideo*

Livelli inferiori a 65-120 pg/mL hanno invece un valore predittivo positivo per osteopatia adinamica nel 75-90% dei casi. Il potere predittivo del PTH nella diagnostica delle osteopatie a basso turnover può essere aumentato associando anche la determinazione della fosfatasi alcalina ossea (b-ALP).

Il fatto che un normale turnover osseo nel paziente uremico si associ a livelli di PTH più elevati della norma ha due fondamentali spiegazioni:

1. negli uremici è stata documentata una down-regulation dei recettori per il PTH e una resistenza ossea al paratormone;

2. è stato dimostrato che i metodi di dosaggio del PTH intatto in realtà dosano anche un frammento che non è il PTH intatto (1-84) e che viene trattenuto nei pazienti con insufficienza renale, per cui l'iPTH è sovrastimato di circa 1,5 volte nei pazienti in dialisi.

Quindi nei pazienti in dialisi, con calcemia normale e senza accumulo osseo di alluminio, i livelli di PTH intatto ottimali, corrispondenti a un normale turnover osseo, sono compresi tra 100 e 200 pg/mL.

### Calcitonina (CT)

La calcitonina è un ormone polipeptidico di 32 aminoacidi secreto dalle cellule parafollicolari (o *cellule C*) presenti nella tiroide.

Essa esercita il suo effetto biologico agendo su tre importanti punti del metabolismo osseo:

- sistema scheletrico;
- rene;
- tratto gastrointestinale (GI).

La principale azione fisiologica della calcitonina nel tessuto scheletrico è l'inibizione del riassorbimento osseo. Questa proprietà si esplica attraverso il legame della calcitonina con specifici recettori sugli osteoclasti che vengono bloccati.

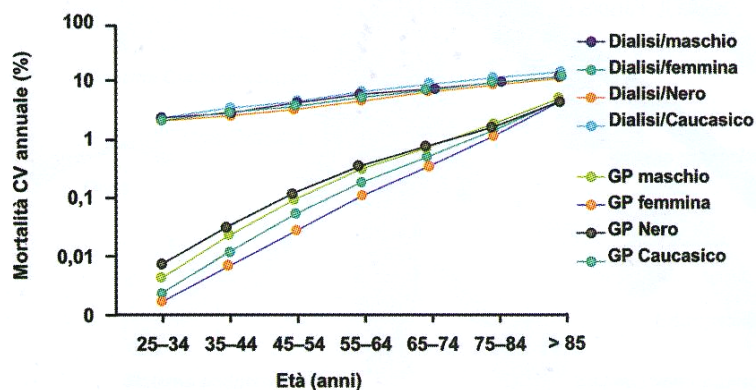
Nel rene la calcitonina aumenta la clearance urinaria del calcio e del fosfato. Infatti in animali da laboratorio l'iniezione dell'ormone determina ipocalcemia e ipofosfatemia.

Nonostante i numerosi sforzi della ricerca, ad oggi il ruolo fisiologico della calcitonina nell'uomo non è ancora ben definito.

## TERAPIE TRADIZIONALI

Come già detto in precedenza, elevati livelli di PTH e del prodotto CaxP nel siero sono associati ad un aumento del rischio di mortalità soprattutto di natura cardiovascolare (15). Questo dato rafforza la già sentita necessità di poter intervenire adeguatamente con un efficace piano di prevenzione e soprattutto con una terapia in grado di contrastare l'iperparatiroidismo secondario (fig. 12).

### Mortalità cardiovascolare dei pazienti in dialisi rispetto alla popolazione generale (GP)



**Figura 12. Mortalità cardiovascolare dei pazienti emodializzati rispetto alla popolazione generale**

Le terapie mediche che attualmente trovano applicazione si concentrano su diversi aspetti:

- la limitazione del fosforo nella dieta;
- la somministrazione di agenti chelanti del fosforo per via orale;
- la somministrazione di Vitamina D, per via orale o per endovena.

La restrizione dell'apporto dietetico di fosforo è una componente importante nella prevenzione e terapia dell'SHPT. Alimenti come il latte e i suoi derivati, la carne, i legumi, il cioccolato, alcune bevande (come per esempio Coca-cola e birra) sono tra gli alimenti più ricchi in fosforo. Per prevenire l'insorgenza di HPT secondario è stata quindi proposta una dieta con un basso contenuto in fosforo (apporto fosforico inferiore a 600 mg/die). Il più grande inconveniente di tale restrizione è che espone i pazienti al rischio di malnutrizione. Questo rischio non è accettabile in molti casi poiché a sua volta mette a rischio il quadro globale del paziente portandolo anche ad una ridotta qualità di vita.

Per il controllo della fosforemia, i cui livelli ideali sarebbero tra 4 e 5 mg/dL, possono essere somministrati chelanti del fosforo come l'idrossido di alluminio, i sali di calcio, i sali di magnesio e il sevelamer.

L'idrossido di alluminio, molto più utilizzato in passato, è ora controindicato dato il rischio di accumulo che presenta nei pazienti dializzati. E' stato documentato, infatti, che l'uso di dosi anche non elevate (si parla di 2-3 g/die) per pochi anni si associa a comparsa di osteopatia da alluminio ed encefalopatia (15). Negli ultimi anni si è passati quindi ad utilizzare il calcio carbonato ed il calcio acetato, che hanno il duplice vantaggio di ridurre la fosforemia e di aumentare l'assorbimento intestinale

di calcio. Inoltre questi composti possono anche migliorare l'acidosi metabolica, ed essendo poco costosi e ben tollerati trovano un grande consenso nella pratica clinica. L'effetto collaterale più frequente è però l'ipercalcemia la cui frequenza varia dal 15 al 50%, ed è dose dipendente.

Anche il carbonato e l'idrossido di magnesio sono efficaci chelanti del fosforo, tuttavia, data l'alterata escrezione renale di magnesio nei pazienti uremici, la loro somministrazione può causare ipermagnesemia. Un importante effetto collaterale dei sali di magnesio è l'aumento della peristalsi intestinale, con comparsa di diarrea, dolori addominali e meteorismo.

Il sevelamer è un polimero (poliallilamina idrocloruro) che non contiene né calcio né alluminio né magnesio; ha il vantaggio di dare una minor incidenza di ipercalcemia ed inoltre si è dimostrato in grado di ridurre i livelli plasmatici di LDL. Il farmaco è ben tollerato con scarsi effetti collaterali. I fattori che attualmente limitano l'uso in Italia del sevelamer sono:

1. l'alto costo: circa 1,44 € a capsula (dosi medie giornaliere: 6-10 capsule), corrispondente a 10 volte circa il costo dei sali di calcio;
2. la bassa compliance dei pazienti ad assumere un così alto numero di capsule che si vanno a sommare al già alto numero di farmaci assunti giornalmente.

Sperimentalmente sono stati ottenuti risultati promettenti con alcuni sali di ferro che oltre a ridurre significativamente l'assorbimento intestinale di fosforo nel ratto uremico, aumentano contemporaneamente l'ematocrito e la sideremia (16).

La calcemia può essere controllata dando supplementi di calcio (calcio carbonato), modulando l'apporto di calcio con la dialisi e usando metaboliti della Vitamina D. Tra questi, il più utilizzato è l'  $1,25(\text{OH})_2$  Vitamina D<sub>3</sub> (calcitriolo), in quanto rappresenta la forma attiva di Vitamina D. Inoltre, sono disponibili in commercio il

25(OH)Vitamina D<sub>3</sub> (calcifediolo) ed il precursore 1 $\alpha$ -idrossilato (1 $\alpha$ calcifediolo), che richiede l'idrossilazione epatica in 25-OH per trasformarsi in calcitriolo.

La terapia di sostituzione della Vitamina D incrementa il livello di calcio e di fosforo nel siero attraverso l'aumento dell'assorbimento intestinale di minerali. L'insorgenza di ipercalcemia e iperfosforemia è frequente nei pazienti trattati con alte dosi di calcitriolo, per cui in questi anni, da parte dell'industria farmaceutica, c'è stato molto interesse nel ricercare metaboliti che fossero altrettanto efficaci quanto il calcitriolo nel sopprimere la sintesi del PTH, ma che presentassero un minor effetto ipercalcemico e iperfosforemico.

Una valutazione del database del DOPPS (Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study, Studio sugli Esiti della Dialisi e degli Schemi di Condotta) ha evidenziato che in Europa fino al 31% dei pazienti dializzati presenta un iPTH>300 pg/mL, e che la proporzione di pazienti con prodotto Ca·P >55mg<sup>2</sup>/dL<sup>2</sup> oscilla, nei diversi paesi, tra il 35,1% e il 56,5% (19). È evidente che esiste un'esigenza da parte del medico di nuove terapie efficaci nel controllo delle concentrazioni sieriche di PTH, calcio e fosforo.

## COMPOSTI IN GRADO DI MODULARE L'ATTIVITÀ DEL SENSORE DEL CALCIO

La scoperta del gene del recettore sensibile al calcio (CaR) è stato il primo passo verso le nuove frontiere per la terapia dell'SHPT. Infatti si è sempre più lavorato per trovare sostanze in grado di modificare l'attività del CaR.

Come già ricordato in precedenza esiste una vasta famiglia di sostanze in grado di interagire con il CaR nella sua porzione extracellulare N-terminale; questi sono i cosiddetti Calciomimetici di tipo I: un gran numero di cationi inorganici e organici (tab. IV) che mimando l'azione del calcio agiscono sull'inibizione della secrezione del PTH. Purtroppo la totalità di questi composti non si presta all'utilizzazione clinica. Infatti, quelli dotati di elevata affinità per il CaR sono anche gravati da una notevole tossicità intrinseca; gli altri a più bassa affinità dovrebbero invece essere utilizzati in dosi così elevate da non essere maneggevoli, potendo indurre effetti metabolici indesiderati.

Per ovviare a questo inconveniente la ricerca ha messo a punto alcuni composti in grado di interagire con una specifica regione del CaR aumentandone l'attività intrinseca (NPS R-467, S-467, R-568, S-568, AMG 073). Questa è la famiglia dei Calciomimetici di tipo II, anche se in effetti risulta inappropriato definirli in questo modo. L'azione di queste sostanze infatti non risiede nel mimare l'azione del calcio,

ma piuttosto si comportano come attivatori allosterici del CaR. La loro attività quindi si esplica nell'interazione con la parte transmembrana del recettore (probabilmente il 6° e 7° dominio transmembrana) inducendo dei cambiamenti conformazionali della porzione extracellulare (N-terminale) del recettore stesso. Questo cambiamento che modifica il recettore fa sì che si abbassi la soglia di sensibilità del recettore alla concentrazione del calcio ionizzato (17-18-19)) (fig. 13 e 14).

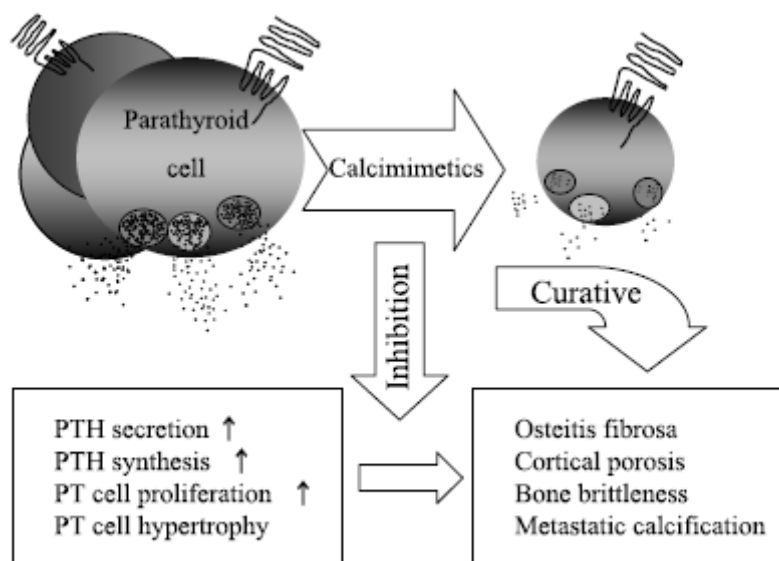


**Figura 13.** Effetti dell'ipocalcemia e del calcimimetico sul CaR

Il primo tra questi composti che fu oggetto di sperimentazione fu l'NPS R-568. Sebbene efficace nel ridurre i livelli di PTH, la maneggevolezza clinica dell'NPS R-

568 si dimostrò molto scarsa sia per la sua bassa biodisponibilità che per l'interferenza con il metabolismo di numerosi altri farmaci che ne condividono la via metabolica (CYP450 2D6).

L'AMG 073 (Cinacalcet), un composto prodotto successivamente, è stato in grado di superare i limiti di bassa maneggevolezza clinica dell'NPS R-568, entrando nell'uso inizialmente sperimentale e infine clinico.



*Figura 14. Dettaglio dell'azione del calcimimetico*

Per completezza, è necessario menzionare che esiste una terza classe di calcimimeticici (di tipo III). Questo terzo gruppo di sostanze, interagendo ancora una volta con la porzione intramembranosa del CaR, induce modificazioni allosteriche della regione extracellulare che, in modo opposto agli attivatori allosterici, inducono una riduzione dell'affinità del CaR per il calcio, determinando un effetto stimolatore sulla secrezione del PTH.

### Farmacocinetica di Cinacalcet (AMG 073)

Le notizie al momento presenti sulle caratteristiche farmacocinetiche di AMG 073 sono relativamente limitate, prevalentemente prodotte nella fase di studio preclinica e in possesso dell'azienda proprietaria del prodotto.

E' comunque noto che AMG 073 è un R-enantiomero, in forma di sale HCl, dal peso molare di 394 g, modicamente solubile in acqua e prevalentemente solubile in soluzione alcolica.

Dopo somministrazione orale la biodisponibilità del farmaco è di oltre il 74% e la massima concentrazione plasmatica (C<sub>max</sub>) viene raggiunta in circa 2-6 ore e si distribuisce rapidamente e omogeneamente nella maggior parte dei tessuti.

I metaboliti vengono poi escreti sia per via biliare (20-40%) che urinaria (circa 50%).

### Popolazioni Speciali

*Insufficienza epatica:* l'emivita di Cinacalcet viene prolungata rispettivamente del 33% e del 70% nei pazienti con insufficienza epatica moderata e grave. Il legame di Cinacalcet con le proteine non è influenzato dall'insufficienza della funzione epatica.

*Insufficienza renale:* il profilo farmacocinetico di una singola dose da 75 mg di Cinacalcet nei pazienti con insufficienza renale lieve, moderata o grave, e in quelli sottoposti a emodialisi o a dialisi peritoneale è confrontabile a quello osservato nei volontari sani.

*Pazienti pediatrici:* non è stata studiata la farmacocinetica di Cinacalcet nei pazienti di età inferiore ai 18 anni.

### Tossicologia di Cinacalcet

Sono stati condotti degli studi tossicologici con Cinacalcet in dose singola e multipla su ratti, cani e scimmie, compreso uno studio in cui Cinacalcet è stato somministrato

a scimmie per 1 anno. Il livello di assenza di effetti avversi osservabili è stato stimato in 50 mg/kg/die, che equivale a un dosaggio nell'uomo pari a circa 200 mg/die. A questo dosaggio, C<sub>max</sub> media e AUC sono di 100 ng/mL e di 1100 ng/hr/mL, rispettivamente. Questi valori si collocano al di sopra della C<sub>max</sub> media e della AUC (0-24) previste in esseri umani che ricevono 180 mg di Cinacalcet, la dose più elevata prevista in questo protocollo.

## SCOPO DELLA TESI

Il trattamento dell'iperparatiroidismo secondario (SHPT) attualmente disponibile nella pratica clinica non risulta completamente efficace, in particolar modo in quei pazienti maggiormente predisposti all'insorgenza di iperfosforemia e di ipercalcemia che ne può seguire a distanza.

E' stato deciso quindi di valutare con questo studio l'efficacia di AMG 073 (Cinacalcet), un calciomimetico di seconda generazione, nel trattamento dell'iperparatiroidismo secondario in un gruppo di pazienti sottoposti a emodialisi extracorporea per insufficienza renale terminale (ESRD) da almeno 1 anno.

Sono stati poi rivalutati gli stessi pazienti a distanza di tempo dall'inizio del trattamento, riconsiderando i parametri biochimici maggiormente coinvolti dall'utilizzo del farmaco e gli eventuali risvolti clinici.

A questo scopo abbiamo effettuato:

- selezione dei pazienti arruolabili secondo i criteri di inclusione e di esclusione (*vide infra*);
- raccolta dei consensi informati, sottoscritti dai pazienti idonei;
- controlli periodici dei livelli ematici di PTH,  $Ca^{2+}$ , P;
- variazione della terapia in base alle diverse necessità;
- valutazione finale dei dati a noi disponibili.

Il risultato terapeutico viene valutato sulla base dei targets terapeutici indicati dalla National Kidney Foundation che prevedono:

1. iPTH < 300 pg/ mL e > 150 pg/mL;

2.  $\text{Ca} \times \text{P} < 55 \text{ mg}^2/\text{dL}^2$  e  $\text{iPTH} < 300 \text{ pg/mL}$ ;
3.  $\text{Ca} \times \text{P} < 55 \text{ mg}^2/\text{dL}^2$  ;
4. calcio  $< 9,5 \text{ mg/dL}$  e  $> 8,4 \text{ mg/dL}$ ;
5. fosforo  $< 5,5 \text{ mg/dL}$  e  $> 3,5 \text{ mg/dL}$ .

E' stata inoltre valutata la sicurezza e soprattutto la tollerabilità clinica di questo nuovo farmaco dal momento che interagisce con un recettore (il CaR) estremamente diffuso nell'organismo, ed in grado di influenzare l'attività di più organi e/o apparati.

## **MATERIALI E METODI**

### **PROTOCOLLO DELLO STUDIO**

Sono state esaminate complessivamente le cartelle cliniche di 240 pazienti in trattamento emodialitico cronico per insufficienza renale terminale (End Stage Renal Disease, ESRD), afferenti alle Divisioni di Dialisi presso l'Azienda Ospedaliera di Padova e l'Ospedale di Dolo.

I dati complessivi di tali centri sono stati elaborati presso la Divisione di Nefrologia dell'Azienda Ospedaliera di Padova.

Essendo lo scopo dello studio la valutazione dell'efficacia terapeutica e della tolleranza del farmaco, la selezione dei pazienti non ha tenuto presente il valore della fosforemia e l'assunzione o meno di chelanti di questo, così come dell'assunzione di supplementi di calcio e/o di Vitamina D da parte dei pazienti.

I criteri di inclusione nello studio sono stati i seguenti:

- soggetti in dialisi di mantenimento per almeno 1 anno;
- adulti con età  $\geq 18$  anni;
- soggetti con iperparatiroidismo secondario (considerato come  $iPTH \geq 300$  pg/mL e con calcio sierico  $> 8,4$  mg/dL).

Non sono stati selezionati soggetti (di ambo i sessi) che presentavano una o più delle seguenti condizioni:

1. Condizioni mediche instabili (ad esempio ospedalizzazione per motivi diversi dal controllo dell'accesso vascolare per la dialisi, nei 30 giorni precedenti all'inizio del trattamento, o altrimenti instabili a giudizio del medico);

2. Non in dialisi di mantenimento;
3. In dialisi di mantenimento da meno di 1 anno;
4. Nell'ultimo mese valori di iPTH < 300 pg/mL (31,8 pmol/L) ovvero livelli di iPTH < 150 pg/mL (15,9 pmol/L);
5. Età < 18 anni;
6. Non accettano di utilizzare metodi contraccettivi altamente efficaci per tutta la durata del trattamento;
7. In gravidanza e allattamento;
8. Sottoposti a paratiroidectomia nel mese precedente il giorno della prima somministrazione del farmaco;
9. Nei 30 giorni precedenti il giorno della prima somministrazione del farmaco, in terapia con farmaci prevalentemente metabolizzati dall'enzima CYP2D6 e caratterizzati da un ristretto indice terapeutico (p. es., flecainide, vinblastina, tioridazina, e la maggior parte degli antidepressivi triciclici). È consentito l'antidepressivo triciclico amitriptilina;
10. Con infarto del miocardio nei 3 mesi precedenti il giorno della prima somministrazione del farmaco;
11. Attualmente arruolati, o non abbiano ancora completato da almeno 30 giorni una sperimentazione su un dispositivo invasivo o un farmaco sperimentale (sono accettabili i macchinari per dialisi sperimentali);
12. Disturbi gastrointestinali, con disfunzione dell'assorbimento di farmaci somministrati per via orale, o incapacità di inghiottire delle compresse.

Sono stati quindi reclutati 18 pazienti, di cui 7 erano in trattamento sostitutivo presso la Divisione di Nefrologia di Padova, e 11 in dialisi presso la Divisione di Nefrologia dell'Ospedale di Dolo (VE).

Tali pazienti, 10 femmine e 8 maschi, di età media compresa tra 34-80 anni,  $62,90 \pm 12,68$  anni, erano in trattamento emodialitico in media da  $7,56 \pm 5,60$  anni, range 2-23 anni (tab. V e tab. VI).

Durante lo studio tutti i pazienti sono stati sottoposti alla medesima metodica emodialitica con bicarbonato dialisi.

I soggetti hanno continuato l'assunzione dei farmaci abitualmente prescritti per tutta la durata dello studio.

*Tabella V. Caratteristiche dei pazienti analizzati.*

<b>CENTRO</b>	<b>ID</b>	<b>Età (anni)</b>	<b>Età dialitica (anni)</b>	<b>Sesso</b>
Padova	1	66	2	F
Padova	2	56	2	F
Padova	3	73	6	F
Padova	4	70	8	M
Padova	5	39	23	M
Padova	6	65	11	M
Padova	7	48	3	M
Dolo	8	73	11	F
Dolo	9	80	13	F
Dolo	10	73	10	F
Dolo	11	64	10	F
Dolo	12	59	2	F
Dolo	13	77	11	F
Dolo	14	59	4	F
Dolo	15	55	6	M
Dolo	16	34	1	M
Dolo	17	67	2	M
Dolo	18	73	11	M

**Tabella VI.** *Caratteristiche dei pazienti analizzati. (valutazione statistica)*

<b>ID</b>	<b>Età (anni)</b>	<b>Età dialitica (anni)</b>
<b>N</b>	18	18
<b>Min</b>	34,00	1,00
<b>Max</b>	80,00	23,00
<b>Media</b>	62,90	7,56
<b>Dev Std</b>	12,68	5,60

I pazienti idonei, dopo aver sottoscritto il modulo di consenso informato, hanno ricevuto una dose iniziale di 30 mg di Cinacalcet (AMG 073) una volta/die, somministrato contestualmente al pasto principale o subito dopo, approssimativamente alla stessa ora del giorno, nei giorni di dialisi e in quelli di intervallo interdialitico.

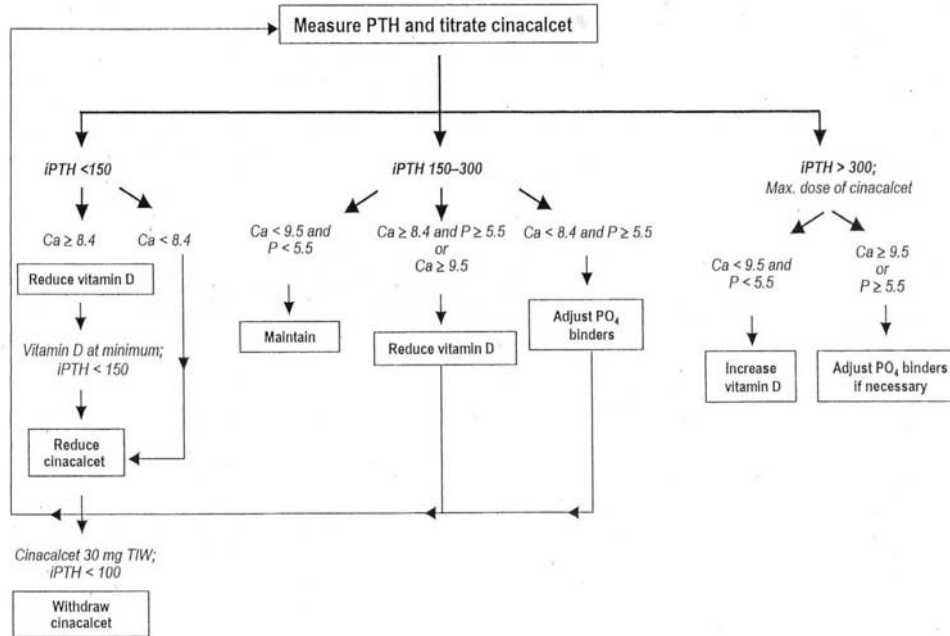
I soggetti sono stati sottoposti, prima, a distanza di 1-2 settimane e dopo 4-6 settimane dall'inizio della terapia, a controlli di calcemia, fosforemia e PTH intatto.

Inoltre prima dell'assunzione del farmaco e dopo 3 mesi di terapia, abbiamo sottoposto 6 pazienti a controlli ematici della fosfatasi alcalina ossea (b-ALP), calcitonina (CT), e a controlli sull'ultrafiltrato dialitico delle desossipiridinoline.

Dopo l'avvio del trattamento, le dosi di farmaco venivano aumentate se il PTH persisteva su valori superiori ai 300 pg/mL e se la calcemia era maggiore o uguale a 8,4mg/dL.

Il farmaco veniva ridotto di 30 mg se il PTH scendeva al di sotto dei 150 pg/mL e sospeso se al di sotto di 100 pg/mL. Tale riduzione veniva effettuata anche se insorgevano sintomi da ipocalcemia e/o se la calcemia si riduceva al di sotto di 7,5

mg/dL, nonostante le modifiche nella terapia con Vitamina D e/o sali di calcio. Il management del farmaco viene schematizzato nella fig. 15.



**Figura 15.** Diagramma della terapia con Cinacalcet in base al PTH e calcio

### Trattamento del sovradosaggio (del protocollo)

Sono state somministrate in sicurezza dosi fino a 180 mg una volta al giorno.

Il sovradosaggio di Cinacalcet può condurre a ipocalcemia.

In caso di sovradosaggio, i pazienti devono essere monitorati per l'insorgenza di segni e sintomi di ipocalcemia e devono essere prese le misure appropriate per correggere i livelli sierici di calcio.

Poiché Cinacalcet è altamente legato alle proteine, l'emodialisi non rappresenta un trattamento efficace in caso di sovradosaggio del farmaco.

## Gestione dell'ipocalcemia

Cinacalcet abbassa il calcio sierico, quindi i pazienti sono stati tenuti sotto stretto controllo per evitare l'insorgenza di grave ipocalcemia. Potenziali manifestazioni di ipocalcemia comprendono sintomi neuromuscolari come gli spasmi muscolari, lo spasmo carpedale, smorfie del viso; si può anche verificare un arresto respiratorio nei casi più gravi. I cambiamenti comportamentali invece comprendono irritabilità, depressione e psicosi. L'intervallo Q-T all'elettro-cardiogramma è di solito allungato, esattamente al contrario a quanto accade in caso di ipercalcemia.

La terapia con Cinacalcet non è stata avviata quando il calcio sierico è risultato al di sotto del limite inferiore dell'intervallo di norma (8,4 mg/dL). Il calcio sierico è stato inoltre misurato entro 2 settimane dall'inizio della terapia o dall'aggiustamento del dosaggio di Cinacalcet.

Quando il calcio sierico è sceso al di sotto di 8,4 mg/dL ma con un valore comunque superiore a 7,5 mg/dL, o quando sono insorti sintomi di ipocalcemia, per elevare il calcio sierico sono stati utilizzati chelanti del fosforo contenenti calcio e/o steroli della Vitamina D. Quando invece il calcio sierico scendeva al di sotto di 7.5 mg/dL, o se i sintomi di ipocalcemia persistevano e la dose di Vitamina D non poteva essere aumentata, la somministrazione di Cinacalcet è stata sospesa finché i livelli di calcio sierico non hanno raggiunto gli 8,0 mg/dL, e/o i sintomi di ipocalcemia si sono risolti. Il trattamento è ripartito poi utilizzando il dosaggio di Cinacalcet immediatamente inferiore.

## DETERMINAZIONI BIOCHIMICHE SU CAMPIONI EMATICI E DI ULTRAFILTRATO DIALITICO

I campioni di sangue sono stati prelevati in predialisi dai pazienti a digiuno, mentre i campioni di ultrafiltrato dialitico sono stati ottenuti dal personale medico 2 minuti dopo l'inizio della dialisi in assenza del bagno dialitico. In seguito alla separazione del siero per sedimentazione e centrifugazione a basso numero di giri, i campioni di siero sono stati conservati a  $-20^{\circ}\text{C}$ , come l'ultrafiltrato dialitico, fino al momento del dosaggio.

### Dosaggio della Fosfatasi Alcalina ossea (b-ALP)

Tra i diversi metodi di dosaggio dell'isoenzima osseo della fosfatasi alcalina, abbiamo scelto per il nostro studio, il metodo immunoenzimatico.

Per questo è stato usato il Kit Metra <sup>TM</sup> BAP EIA, che utilizza un anticorpo monoclonale anti-BAP per catturare la BAP nel campione. L'attività enzimatica della BAP catturata viene rilevata con un substrato di pNPP (p-nitrofenolfosfato). Il saggio immunoenzimatico Metra <sup>TM</sup> BAP fornisce una misura quantitativa dell'attività della fosfatasi alcalina osso-specifica nel siero come indicatore dell'attività osteoblastica.

Il limite di sensibilità del metodo Metra BAP è di 0,7 U/L.

### Dosaggio della Desossipiridinolina (DPD)

La desossipiridinolina è stata dosata nell'ultrafiltrato dialitico mediante l'analizzatore automatico IMMULITE<sup>®</sup> 2000 Pyrilinks-D, attraverso un metodo

immunoenzimatico in fase solida, che utilizza un enzima marcato con rivelazione in chemiluminescenza.

La sensibilità analitica di questo metodo è pari a 6 nM.

### Dosaggio del Paratormone intatto (iPTH)

Il PTH intero, nel siero è stato valutato con analisi immunoenzimatica a sandwich (LIAISON<sup>®</sup> N-tact<sup>™</sup> PTH Assay), che utilizza due tipi di anticorpi. Il primo, legato alla fase solida, riconosce la regione 39-84 del PTH, mentre il secondo, coniugato ad un derivato dell'isoluminolo, riconosce la porzione 1-34 del PTH. Il sistema di rilevazione è in chemiluminescenza, e la sensibilità analitica è di 1,0 pg/mL.

### Dosaggio della Calcitonina(CT)

La determinazione della calcitonina nel siero umano utilizza un immunodosaggio a sandwich (Nichols Advantage<sup>®</sup> Specialità System), che sfrutta due anticorpi monoclonali murini anti-calcitonina umana. Uno di questi è marcato con estere di acridinio per il rilevamento, mentre l'altro è accoppiato alla biotina. La calcitonina forma un complesso a sandwich tra questi due anticorpi.

Il metodo di rilevazione è in chemiluminescenza, e la quantità di anticorpo marcato legato è direttamente proporzionale alla concentrazione di calcitonina nel campione.

Tale dosaggio immunometrico presenta sensibilità analitica (minima concentrazione rilevabile) pari a 1,0 pg/mL.

### Dosaggio del calcio totale

Il calcio sierico e nel dialisato è stato valutato per mezzo di un analizzatore automatico multiparametrico (Modular D, Roche Diagnostics) mediante metodo colorimetrico con determinazione a punto finale e con bianco campione. In soluzione

alcalina, il calcio forma con la o-cresoltaleina un complesso viola, la cui intensità di colorazione, direttamente proporzionale alla concentrazione di calcio, viene misurata fotometricamente.

La sensibilità analitica di tale metodo corrisponde a 0,05 mmol/L.

### Dosaggio del calcio ionizzato

Il calcio ionizzato è stato analizzato, subito dopo aver effettuato i prelievi ai pazienti (non congelato), con metodo potenziometrico indiretto ad un pH di 7,4 (infatti il calcio libero, non legato a proteine ed anioni, si determina al pH del sangue). Per questa analisi è stato utilizzato l'analizzatore multiparametrico automatizzato Modular D (modulo ISE) Roche Diagnostics.

Il dosaggio immediato dei campioni si è reso necessario per evitarne il contatto con l'aria che potrebbe causare una variazione del pH e quindi l'alterazione dei risultati.

### Dosaggio del fosforo

Il fosforo nel siero e nell'ultrafiltrato dialitico è stato determinato utilizzando un analizzatore multiparametrico automatizzato (Modular D, Roche Diagnostics) con metodo a punto finale con il bianco campione. Il fosfato inorganico forma, con il molibdato di ammonio, in soluzione solforica acida, un complesso di ammoniofosfomolibdato secondo la formula  $(\text{NH}_4)_3[\text{PO}_4(\text{MoO}_3)_{12}]$ . Questo complesso viene misurato fotometricamente nella frazione dei raggi ultravioletti a 340 nm. La sensibilità analitica del fosforo nel siero è uguale a 0,1 mmol/L.

## Dosaggio del Magnesio

Il magnesio, nel siero e nell'ultrafiltrato dialitico, è stato analizzato mediante un analizzatore multiparametrico automatizzato (Modular D, Roche Diagnostics) con metodo colorimetrico a punto finale, basato sulla reazione del magnesio con il blu di xilidil (un sale diazonico), in soluzione alcalina contenente EDTA per la chelazione del calcio nel campione. Si forma quindi un complesso di colore rosso porpora. La concentrazione del magnesio viene determinata misurando fotometricamente la variazione di assorbenza legata all'estinzione del blu di xilidil.

Il limite di sensibilità analitica è pari a 0,03 mmol/L.

## Dosaggio della Creatinina

La creatinina, sia nel siero che nel dialisato, è stata determinata con metodo Jaffè con compensazione bianco cinetica (Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Germania). Tale metodo cinetico colorimetrico si basa sulla reazione tra creatinina e acido picrico, in soluzione alcalina, con formazione di un complesso di colore giallo-arancio; la cui intensità di colore è direttamente proporzionale alla concentrazione di creatinina e viene misurata fotometricamente. La sensibilità analitica corrisponde a 0,1 mg/dL.

## Dosaggio di Sodio, Potassio e Cloro

Tali elettroliti sono stati dosati nel siero e nell'ultrafiltrato dialitico mediante l'analizzatore multiparametrico automatizzato Modular D (modulo ISE) Roche Diagnostics, che utilizza il metodo potenziometrico indiretto.

## VALUTAZIONE STATISTICA DEI DATI

I risultati sono espressi come media  $\pm$  deviazione standard. La significatività delle differenze tra i valori ottenuti prima e dopo il trattamento con cinacalcet sono state valutate con il test “ t di Student” applicato ai dati appaiati. Si è considerato come limite minimo di significatività  $p < 0,03$ .

*Poiché Cinacalcet non è ancora in commercio in Italia, il suo utilizzo è consentito per scopi terapeutici, in base ad un Decreto Ministeriale (8/5/03), in pazienti per cui non esiste una valida alternativa terapeutica. Il farmaco è stato pertanto richiesto all'azienda produttrice (Amgen) che lo ha fornito attraverso un programma di accesso allargato, in base ad uno specifico protocollo, approvato dai Comitati Etici competenti per le istituzioni coinvolte.*

## RISULTATI

Sono stati trattati e valutati 18 pazienti. I controlli di laboratorio (PTH, Ca, P) sono stati eseguiti prima dell'inizio dello studio (*controllo 0*), dopo 2 settimane (*controllo 1*), dopo 3 mesi (*controllo 2*), dopo 1 anno (*controllo 3*) e dopo circa 2 anni di trattamento (*controllo 4*).

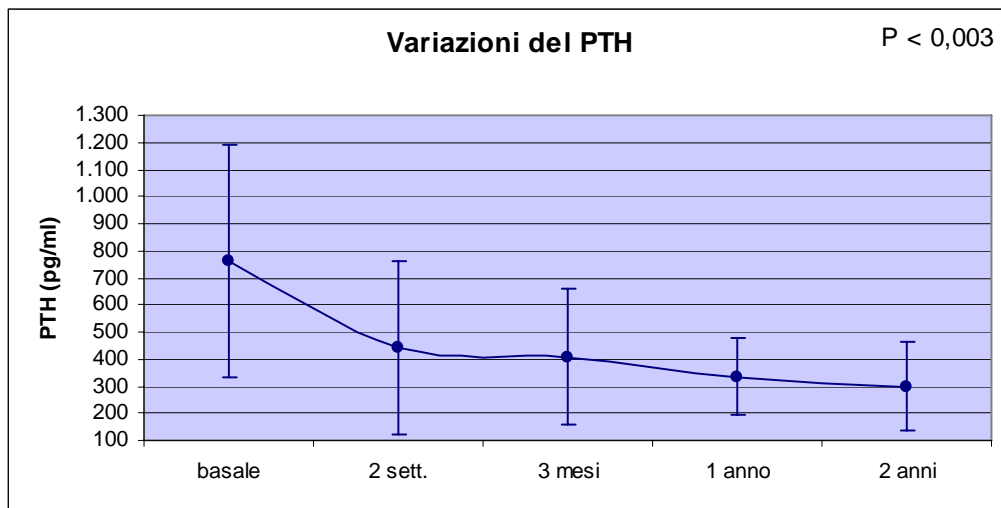
I pazienti da noi studiati presentavano un grado di HPT secondario di severità variabile da lieve a grave. In particolare i pazienti erano così suddivisi:

- con HPT secondario lieve ( $PTH \leq 500$  pg/mL) erano 5 (27,8 %);
- con HPT secondario moderato ( $500 > PTH < 800$  pg/mL) erano 7 (38,9%);
- con HPT secondario grave ( $PTH \geq 800$  pg/mL) erano 6 (33,33%).

I livelli basali di PTH (*controllo 0*) erano in media  $762 \pm 430$  pg/mL e i livelli basali di calcio e fosforo erano in media rispettivamente di  $10,77 \pm 0,74$  mg/dL e di  $5,68 \pm 1,36$  mg/dL. Il prodotto Ca·P basale era di  $60,72 \pm 12,45$  mg<sup>2</sup>/dL<sup>2</sup>.

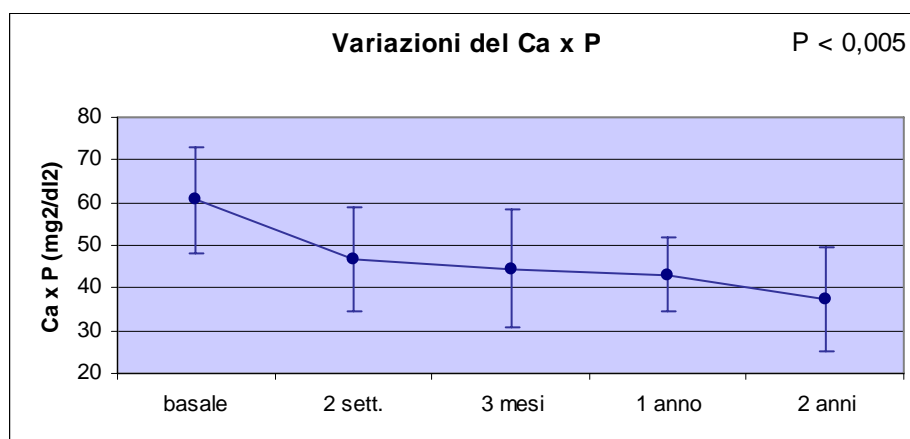
Per alcuni pazienti, nel corso dell'osservazione, si è reso necessario modificare l'assunzione o il dosaggio di farmaci attivi sul metabolismo calcio-fosforo (Vitamina D, chelanti del fosforo).

Al *controllo 1* si osservavano livelli di PTH in media di  $443 \pm 318$  pg/mL, al *controllo 2* i livelli di PTH erano in media di  $408,82 \pm 253$  pg/mL e al *controllo 3* i livelli di PTH si mantenevano in media  $336 \pm 143$  pg/mL. A due anni i livelli di PTH si mantengono su valori di  $299 \pm 163$  pg/mL. La fig. 16 mostra l'andamento del PTH in questo intervallo di tempo. Si può notare dal grafico come i valori sierici dell'ormone siano diminuiti nel tempo, e si siano mantenuti a livelli più bassi rispetto a quelli di partenza prima dell'inizio della terapia.



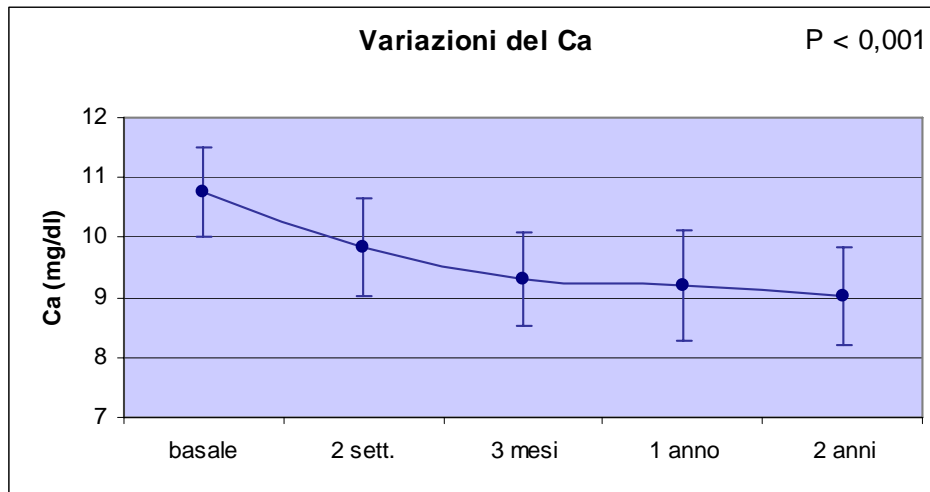
**Figura 16.** Variazioni del valore di PTH

Al controllo 0 il valore medio del prodotto Ca·P si attestava a  $60,72 \pm 12,45 \text{ mg}^2/\text{dL}^2$ . Al controllo 1 il valore medio del prodotto Ca·P era di  $46,6 \pm 12,2 \text{ mg}^2/\text{dL}^2$ , al controllo 2 era di  $44,5 \pm 13,8 \text{ mg}^2/\text{dL}^2$ , al controllo 3 la media risultava  $43,1 \pm 8,8 \text{ mg}^2/\text{dL}^2$ , mentre a due anni il valore si attesta sui  $37,2 \pm 12,2 \text{ mg}^2/\text{dL}^2$  (controllo 4). La fig. 17 mostra una riduzione significativa del prodotto Ca·P già dopo 2 settimane e una ulteriore riduzione nei controlli successivi.

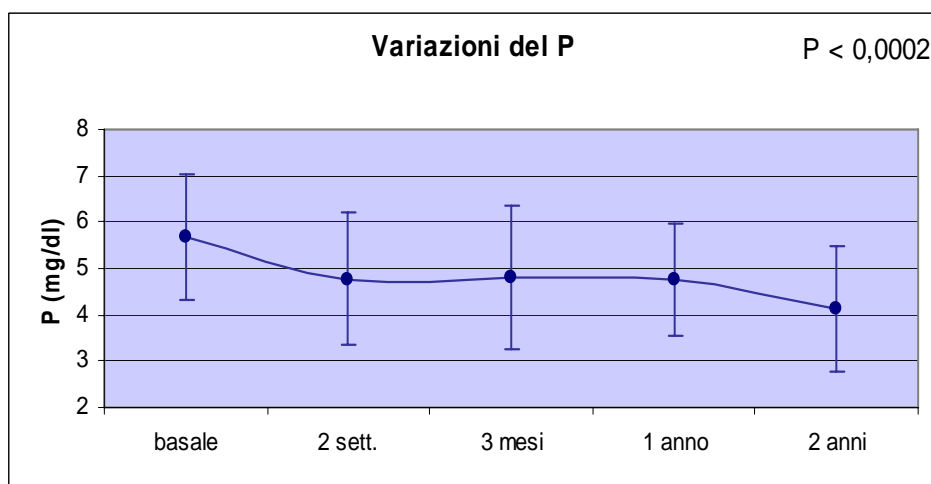


**Figura 17.** Variazioni del prodotto Ca·P

Anche i valori, osservati al controllo a due anni di calcio sierico (media  $9,03 \pm 1,03$  mg/dL) e fosforo sierico (media  $3,90 \pm 1,11$  mg/dL), evidenziano significative variazioni rispetto a quelli basali (figure 18 e 19).



*Figura 18. Variazioni del valore del Ca*



*Figura 19. variazioni del valore del P*

Nel corso del trattamento di questi pazienti con calciomimetico, si è potuto notare che il farmaco determina una riduzione del PTH che risulta indipendente dai livelli di PTH iniziale.

Nella tabella VII vengono riportate medie e deviazioni standard relative ai dosaggi ematochimici di elettroliti (Na, Cl, Pi, K, Ca, Mg), creatinina, fosfatasi alcalina ossea (b-ALP) e calcitonina (CT). Gli elettroliti (Ca, K, Na, Cl, Mg) rimanevano stabili, grazie alla metodica dialitica che ne mantiene costanti i valori, solo la sodiemia e la cloremia presentavano un modesto (non significativo) aumento.

**Tabella VII.** *Variazione dei parametri ematici e dell'ultrafiltrato (acqua plasmatici) prima e dopo tre mesi dalla terapia con Cinacalcet*

PARAMETRI EMATICI	PRIMA DEL CALCIOMIMETICO		DOPO IL CALCIOMIMETICO	
	media	dev. stand.	media	dev. stand.
P-Na mmol/L	135,83	1,33	137,33	1,63
P-Cl mmol/L	100,67	2,66	104,83	2,99
P-Pi mmol/L	5,68	1,36	4,72	1,54
P-K mmol/L	5,34	0,71	5,82	0,69
P-Ca ioniz mmol/L	1,2	0,12	1,15	0,1
P-Mg mmol/L	1,1	0,12	1,2	0,2
P-creatinina $\mu$ mol/L	841,83	116,48	914,83	186,78
P-bALP U/L	26,83	16,39	25,17	14,99
P-Calcitonina pg/L	11,87	7,84	10,62	7,93
ULTRAFILTRATO	PRIMA DEL CALCIOMIMETICO		DOPO IL CALCIOMIMETICO	
	media	dev. stand.	media	dev. stand.
UF-DPD nmol/L	50	15,49	31,67	14,72

Sempre nella tab. VII vengono riportate medie e deviazioni standard relative ai dosaggi nell'ultrafiltrato dialitico della desossipiridinolina (DPD).

Nei sei pazienti in cui sono state valutate b-ALP e DPD, entrambi i parametri si riducevano rispettivamente in 4 e 5 casi su 6.

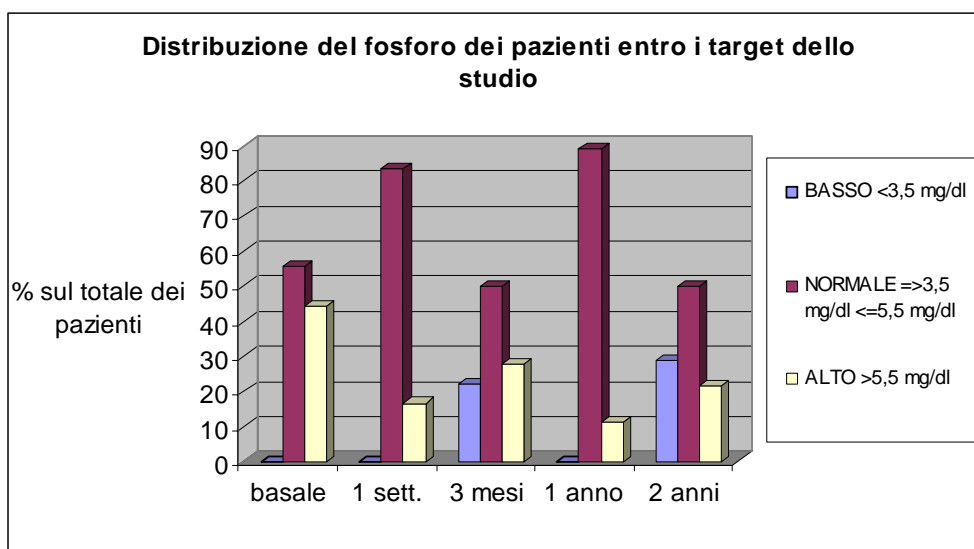
Dopo 2 settimane e dopo 3 mesi di terapia, i soggetti che presentavano concentrazioni di PTH, Ca, P e prodotto Ca·P entro i targets, raccomandati dalle linee guida NFK/K/DOQI, sono riportati nella tab. VIII.

**Tabella VIII.** *Pazienti che hanno raggiunto i targets di PTH (> 150 pg/mL e < 300 pg/mL), Ca (>8.4 e < 9.5 mg/dL), P (>3.5 e < 5.5 mg/dL) e Ca·P (< 55 mg<sup>2</sup>/dL<sup>2</sup>) a tre mesi dall'inizio della terapia*

	<b>BASALE</b>	<b>A DUE ANNI</b>
<b>PTH</b>	-	8 (44,4%)
<b>Ca</b>	2 (11,10%)	6 (33,3%)
<b>P</b>	11 (61,10%)	9 (50%)
<b>Ca·P</b>	5 (27,80%)	13 (72,2%)
<b>PTH e Ca·P</b>	-	7 (38,8%)

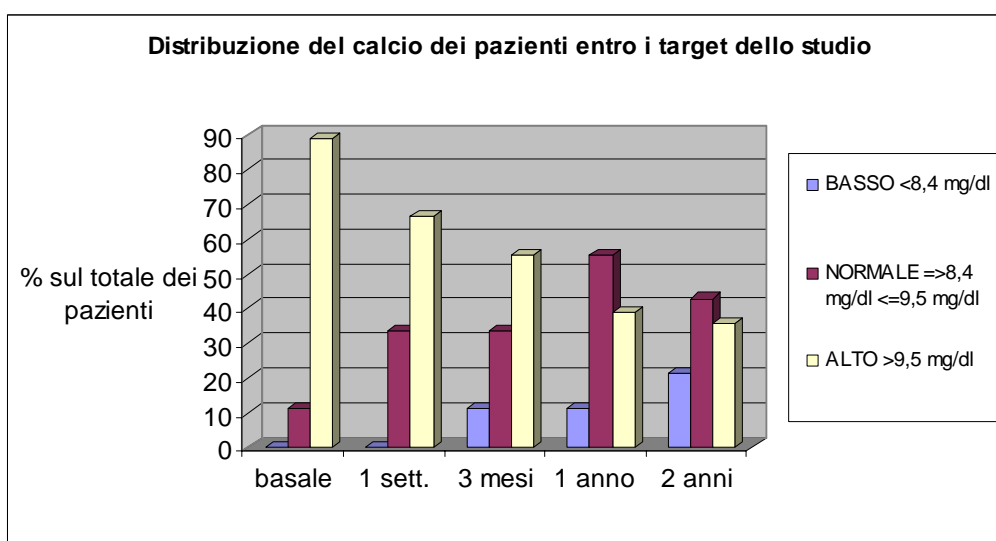
Nei nostri risultati, al termine dello studio, la fosforemia rientrava nel range di normalità in una minor percentuale di pazienti (50%) rispetto al basale (55,55%), mentre per la calcemia la percentuale dei pazienti che, dopo somministrazione del calciomimetico, rientrava nel range di normalità era quadruplicata rispetto al basale (43% contro l'11% basale) e conseguente marcato aumento percentuale di pazienti con prodotto Ca·P al di sotto dei 55 mg<sup>2</sup>/dL<sup>2</sup> (86%).

In condizioni basali la fosforemia rientrava nel range di normalità in più del 55,5% dei soggetti mentre il 44% dei pazienti non aveva un buon controllo della stessa. Al termine del protocollo la fosforemia era normale nel 50% dei pazienti ma nel restante 50% dei casi non rientrava nel range di normalità, probabilmente per la difficoltà nel combinare la terapia tradizionale (chelanti del fosforo) con il Cinacalcet (fig. 20).



*Figura 20. Raggiungimento dei target dello studio*

Prima di iniziare la somministrazione del calciomimetico circa il 90% dei pazienti presentava una calcemia elevata. Al termine del protocollo la calcemia è diminuita nel 64% dei pazienti ed in particolare il 43% di questi ultimi è rientrato nel range di normalità mentre il 21% presentava una lieve ipocalcemia per la quale però non è stato necessario sospendere la somministrazione del farmaco (fig. 21).



*Figura 21. Raggiungimento dei target dello studio*

Nel corso dello studio, Cinacalcet è stato generalmente ben tollerato nei nostri pazienti trattati.

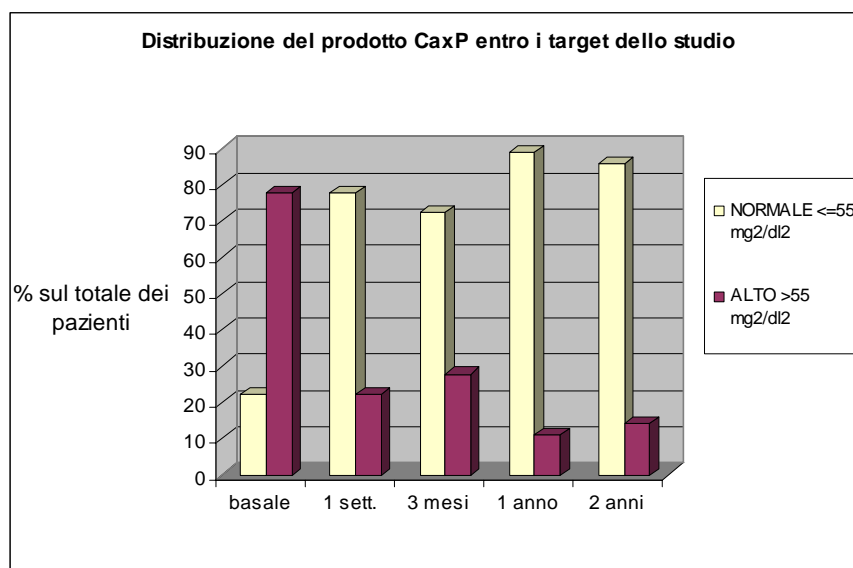
Durante il trattamento al dosaggio di 30 mg/die non si sono verificati in alcun caso eventi avversi, mentre, con l'aumento della dose 2 pazienti (11%) hanno presentato effetti collaterali molto probabilmente riconducibili al farmaco.

In entrambi i casi si trattava di problemi di origine gastrointestinale (nausea), risolti con il ritorno alla dose precedente. Tali eventi presentavano in genere severità moderata e breve durata.

Condizioni di ipocalcemia, con valori di calcio sierico inferiori a 7,5 mg/dL, si sono verificate in 1 paziente nelle prime due settimane di trattamento. Questi valori non sono stati associati a sintomi, e sono stati riportati ad un valore maggiore di 8,0 mg/dL in seguito a modificazioni delle dosi di Vitamina D e supplementi di sali di calcio.

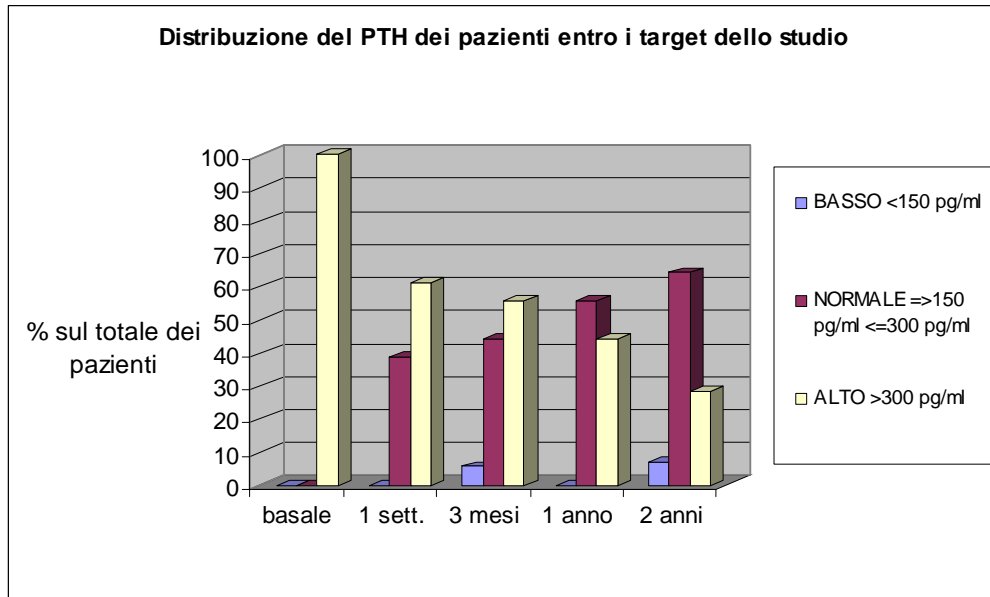
Nessun paziente ha sospeso il farmaco, né per ipocalcemia.

Al termine dello studio il dato più interessante da notare è il prodotto Ca·P che in oltre l'85% dei casi è rientrato entro i target dello studio (fig. 22).



**Figura 22.** Raggiungimento dei target dello studio

Anche la riduzione dei valori del PTH sierico è abbastanza incoraggiante con più del 60% dei pazienti che rientrano e mantengono nel tempo i livelli desiderati nei target già citati (fig. 23).



**Figura 23.** Raggiungimento dei target dello studio

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I pazienti con iperparatiroidismo da noi studiati denotavano un elevata prevalenza di alterazioni del metabolismo minerale.

I 2/3 di essi evidenziavano infatti valori di calcemia, fosforemia e prodotto calcio-fosforo (Ca·P) al di fuori del range terapeutico, confermando quanto riportato da indagini epidemiologiche eseguite su popolazioni ad elevata numerosità (14) in cui, più del 50% dei pazienti denotavano alterazioni del metabolismo fosfo-calcico.

Le alterazioni di questo metabolismo portano inevitabilmente al perpetuarsi dei meccanismi patogenetici responsabili dell'iperparatiroidismo secondario (SHPT).

La prolungata stimolazione del tessuto paratiroideo determina inoltre la proliferazione clonale delle cellule ghiandolari con ridotta espressione dei recettori sensibili al calcio e dei recettori della Vit. D con una conseguente ridotta attività soppressiva di quest'ultima (9).

L'aumentato assorbimento intestinale di calcio che la Vit. D determina, associato all'aumentato introito alimentare del minerale dovuto ai sali di Ca utilizzati come chelanti del fosforo, costringono inoltre a frequenti variazioni della terapia onde evitare alterazioni della calcemia, l'iperfosforemia ed il conseguente aumento del prodotto Ca·P: fattore di rischio per la formazione di calcificazioni ectopiche, specie a livello vascolare (4).

In accordo con i dati della letteratura (17) la terapia con calciomimetici, non soltanto si è associata a rapida e persistente riduzione significativamente rilevante dei livelli di PTH (fig. 16), ma ha determinato consensualmente una riduzione dei livelli sierici di calcio, fosforo e conseguentemente del loro prodotto (figure 17, 18, 19). Il meccanismo attraverso cui ciò si realizza risiede, probabilmente, in un minor afflusso di calcio dall'osso al compartimento ematico secondario alla riduzione dell'ormone

paratiroideo e alla riduzione del rimaneggiamento scheletrico (20). Tale interpretazione è suggerita dalla riduzione non solo dei valori sin qui discussi, ma soprattutto dalla riduzione delle concentrazioni di desossipiridinoline nell'ultrafiltrato plasmatico e dalla pur modesta riduzione dell'isoenzima osseo della fosfatasi alcalina.

La calcemia e la fosforemia spesso cadono al di sotto del limite inferiore del target terapeutico, spiegando sia la lieve riduzione rispetto al basale della percentuale di soggetti con valori di tali parametri entro l'obiettivo terapeutico, sia il marcato aumento percentuale di pazienti con prodotto Ca·P al di sotto dei 55 mg<sup>2</sup>/dL<sup>2</sup>.

Circa l'86% della popolazione studiata ha infatti, al termine dell'osservazione, valori ideali di prodotto Ca·P con una prevedibile riduzione del rischio di calcificazioni ectopiche.

La maggiore prevalenza di ipocalcemia e ipofosforemia può essere controllata da una stretta modulazione della terapia con chelanti del P e Vit. D e, se necessario, dello stesso calciomimetico. Anche nella nostra casistica infatti sono state necessarie modificazioni della terapia associata al farmaco in sperimentazione. In particolare nel 18% dei nostri pazienti è stato necessario aumentare la terapia con Vit. D e/o sali di Ca.

Il raggiungimento dei target terapeutici sembra inoltre influenzato dal grado di gravità dell'HPT secondario.

Il miglioramento inoltre del quadro biochimico del metabolismo minerale è stato attuato con dosi modeste di calciomimetico; dei 18 pazienti trattati solo 4 pazienti (meno del 23%) ha dovuto aumentare la dose iniziale del farmaco portando la somministrazione da 30mg/die a 60mg/die; un paziente ha modificato invece la terapia iniziale di 30 mg/die con l'assunzione di 45 mg/die (posologia raggiunta con

la somministrazione di 30 mg e 60 mg a giorni alterni), in due pazienti invece la dose è stata addirittura ridotta portando la somministrazione a 30 mg a giorni alterni (sistema di somministrazione necessario considerando l'impossibilità di spezzare le compresse). Ciò è estremamente importante se si considera che l'aumento della posologia si può associare alla comparsa di disturbi gastrointestinali probabilmente promossi da un'attività del farmaco anche sui sensori del Ca, che regolano la secrezione e la motilità gastrointestinale.

Questi confortati risultati preliminari meriterebbero di essere confermati in una indagine multicentrica, con un disegno a doppio cieco e con una popolazione di controllo, meglio se comparabile per iperparatiroidismo, durata della dialisi e caratteristiche demografiche e cliniche. La presenza di una popolazione di controllo servirebbe inoltre ad eliminare il principale bias della nostra indagine, rappresentato dal fatto che i promettenti risultati clinici potrebbero essere, almeno in parte, dovuti ad una più stretta sorveglianza clinica e metabolica della popolazione studiata.

Le aumentate possibilità di raggiungere i target raccomandati dalla comunità nefrologica internazionale dovrebbero tradursi non soltanto in una ridotta incidenza e gravità dell'osteodistrofia, con conseguente minor ricorso alla paratiroidectomia, ma dovrebbero anche ridurre la morbilità e la mortalità cardiovascolare, significativamente correlata alle alterazioni del metabolismo calcio-fosforo: ancora oggi la principale causa di morte degli emodializzati (14).

Il controllo, meglio se precoce, dell'iperparatiroidismo secondario riveste particolare importanza in vista di trapianto di rene, per evitare le non infrequenti crisi ipercalcemiche post trapianto che non solo compromettono la funzione dell'organo (o degli organi) trapiantato, ma rendono indispensabile la paratiroidectomia.

Sebbene questa nuova classe di farmaci rappresenti un vero importante avanzamento nel trattamento dell'iperparatiroidismo nell'uremia, sarà necessario comunque chiarire alcuni punti che al momento lasciano aperti numerosi interrogativi (tab. IX).

Innanzitutto, sarà da stabilire qual è il momento giusto per l'inizio di una terapia con i calciomimetici. Sappiamo infatti che, per un lungo periodo di tempo nel corso evolutivo dell'IRC, l'iperparatiroidismo secondario rappresenta un meccanismo di compenso che controbilancia la ridotta biodisponibilità di Vitamina D, la tendenza alla ritenzione di fosfati e la ridotta risposta dell'osso a livelli normali di PTH.

In secondo luogo, sarà probabilmente obbligatoria l'associazione con la Vitamina D o i suoi analoghi (nuovi prodotti non ipercalcemizzanti) e con i chelanti del fosforo contenenti calcio e per tali associazioni sarà necessario ridefinire dosi e schemi terapeutici.

Ancora, sarà necessario accertare l'impatto di questi nuovi schemi terapeutici sul tessuto osseo e sull'apparato cardiovascolare, che è verosimilmente quello che sino ad ora ha pagato il più alto prezzo ai trattamenti più "arditi" dell'iperparatiroidismo uremico.

Infine, sarà obbligatorio sorvegliare con estrema attenzione tutti gli effetti collaterali, anche apparentemente meno correlati alle problematiche metaboliche del calcio e fosforo, considerata la quasi ubiquità dei CaR.

C'è anche da aggiungere che alcune indicazioni sperimentali pongono questa nuova classe di farmaci in una posizione di particolare interesse per quelli che potrebbero essere effetti potenzialmente benefici sulla progressione dell'IRC, dato l'effetto protettivo sull'evoluzione della fibrosi e sulla deposizione di calcificazioni interstiziali a livello del rene, almeno in studi sperimentali sull'animale (21).

In conclusione, i calciomimetici rappresentano di certo un avanzamento importante nel campo del trattamento dell'iperparatiroidismo secondario e condizioneranno

sostanzialmente l'approccio terapeutico, forse da estendersi anche alle fasi iniziali dell'iperparatiroidismo primitivo.

**Tabella IX.** *Futuri chiarimenti nell'uso del farmaco*

- Definire le dosi minime e massime efficaci;
- Definire gli schemi di trattamento più idonei ( terapia continua, a cicli, associazione con vitamina D, chelanti del fosforo, etc..)
- Definire l' impatto sul tessuto osseo;
- Definire l'impatto sul sistema cardio-vascolare;
- Definire l'impatto su tutti gli altri sistemi cellulari dove è espresso il CaR;
- Uso nell' IRC pre-dialitica;
- Uso nel paziente trapiantato di rene;
- Sicurezza nel lungo termine;
- Profilo costo-efficacia dei vari schemi terapeutici.

La loro utilizzazione dovrà però essere accompagnata, oltre che da una notevole attenzione nel monitoraggio di qualsiasi effetto collaterale potenzialmente associato all'uso nel lungo termine di questi farmaci, anche alla consapevolezza che qualsiasi progresso nella terapia deve mantenere viva la memoria delle acquisizioni conoscitive precedenti e ancor più degli errori compiuti nel passato, dettati spesso da un eccessivo entusiasmo e da un eccesso di confidenza nei confronti di nuove proposte terapeutiche.

## **BIBLIOGRAFIA**

- (1) Rodriguez M., Nemeth E., Martin D. The calcium-sensing receptor: a key factor in the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *Am J Physiol renal Physiol* 288: F253-F264, 2005.
- (2) Drüeke T. The pathogenesis of parathyroid gland hyperplasia in chronic renal failure (*nephrology forum*). 1995; 48: 259-72.
- (3) Rostand SG, Drueke TB. Parathyroid hormone, vitamin D, and cardiovascular disease in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999; 56: 383-392.
- (4) Goodman WG. Recent developments in the management of secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2001; 59:1187-1201.
- (5) Block GA, Port FK. Re-evaluation of risks associated with hyperphosphatemia and hyperparathyroidism in dialysis patients: recommendations for a change in management. *Am J kidney Dis* 2000; 35:1226-1237.
- (6) National Kidney Foundation: K/DOQI clinical practice guidelines on bone metabolism and disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42(S3): 1-201
- (7) Portale AA, Booth BE, Halloran BP, Morns RC Jr. Effect of dietary phosphorus on circulating concentrations of 1,25-dihydroxyvitamin D and immunoreactive parathyroid hormone in children with moderate renal insufficiency. *J Clin Invest* 1984; 73: 1580-1589.
- (8) Gogusev J, Duchambon P, Hory B, Giovannini M, Goureau Y, Sarfati E, Drueke TB. Depressed expression of calcium receptor in parathyroid gland tissue of patients with hyperparathyroidism. *Kidney Int* 1997; 51:328-336.

- (9) Malberti F, Faina M, Imbasciati E. the PTH-calcium curve and the set point of calcium in primary and secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14:2398-2406.
- (10) Justin Silver, Rachel Kilav, Tally Naveh-Many. Mechanisms of secondary hyperparathyroidism. *Am J Renal Physiol* 2002; 283 F367-F376.
- (11) Gupta Ajay, Kallenbach Lee R., Zasuwa Gerard, Divine George W., Race is a major determinant of secondary hyperparathyroidism in uremic patients. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 330-334.
- (12) Saleh F. N., Schirmer H., Sundsfjor J., Jorde R. Parathyroid hormone and left ventricular hypertrophy. *European Heart Journal* 2003; 24:2054-2060.
- (13) Urena P, Hruby M, Ferreira A et al. Plasma total versus bone alkaline phosphatase as markers of bone turnover in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 506-512.
- (14) Ganesh SK, Stack AG, Levin NW, Hulbert-Shearon T, Port FK. Association of elevated serum PO<sub>4</sub>, Ca x P product, and parathyroid hormone with cardiac mortality risk in chronic hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12:2131-2138.
- (15) Sherrard DJ, Hercz G, Pei Y et al. The spectrum of bone disease in end-stage renal failure. An evolving disorder. *Kidney Int* 1993; 43: 436-442.
- (16) Hsu CH, Potei SR, Young EW. New phosphate binding agents: ferric compounds. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1274-1280.
- (17) Young E, Satayathum S, Pisoni E, et al. Prevalence of values on mineral metabolism being outside the Targets from the Proposed New Draft NKF-K/DOQI and European Best Practice Guidelines in Countries of the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS) [abstract]. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18(4):677. Abstract W414.

- (18) Block GA, Martin KJ, de Francisco ALM, et al. Cinacalcet for secondary hyperparathyroidism in patients receiving hemodialysis. *New Eng J Med* 2004; 350: 1516-1525.
- (19) Peacock M, Shoback DM, Greth WE, et al. The calcimimetic AMG 073 reduces serum calcium (Ca) in patients with primary hyperparathyroidism (PHPT). *J Bone Miner Res* 2001; 16:S303.
- (20) Nemeth EF, Steffey ME, Hammerland LG, et al. Calcimimetics with potent and selective activity on the parathyroid calcium receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95:4040-4045.
- (21) Harris RZ, Padhi D, Marbury TC, Noveck RJ, Salfi M, Sullivan JT. Pharmacokinetics, pharmacodynamic, and safety of cinacalcet hydrochloride in hemodialysis patients at doses up to 200 mg once daily. *Am J Kidney Dis* 2004; 44:1070-1076.
- (22) Peacock M, Shoback DM, Greth WE, et al. The calcimimetic AMG 073 reduces serum calcium (Ca) in patients with primary hyperparathyroidism (PHPT). *J Bone Miner Res* 2001; 16:S303.
- (23) Lindberg JS, Moe SM, Goodman WG, et al. The calcimimetic AMG 073 reduces parathyroid hormone and calcium x phosphorus in secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2003.
- (24) Block GA, Martin KJ, de Francisco ALM, et al. Cinacalcet for secondary hyperparathyroidism in patients receiving hemodialysis. *New Eng J Med* 2004; 350: 1516-1525.