

Nuove acquisizioni nella patogenesi dell'iperparatiroidismo secondario

M. Cozzolino, A. Butti, G. Chiarelli, L. Rocca-Rey, A. Bellasi, A. Galassi, M. Gallieni, D. Brancaccio

U.O. Nefrologia e Dialisi, Azienda Ospedaliera San Paolo, Polo Universitario, Milano

New insights in the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism

Parathyroid gland growth is a major cause of secondary hyperparathyroidism in renal failure. It is well known that high serum phosphate levels, low serum calcium levels and vitamin D deficiency are the three promoters of parathyroid hyperplasia in renal failure. Recent studies have investigated in depth the potential role of growth factors (transforming growth factor alpha) and their receptors (epidermal growth factor receptor) in the pathogenesis of parathyroid cell hyperplasia in chronic renal failure. The identification of molecular mechanisms involved in calcium, phosphate and vitamin D manipulations in an experimental renal failure model could help design more effective therapy for secondary hyperparathyroidism in uremic patients. (G Ital Nefrol 2005; 22: 329-36)

KEY WORDS: Secondary hyperparathyroidism, Phosphate, Calcium, Vitamin D, Growth factors, Renal failure

PAROLE CHIAVE: Iperparatiroidismo secondario, Fosfato, Calcio, Vitamina D, Fattore di crescita, Insufficienza renale

Commento Editoriale

I meccanismi molecolari di controllo della regolazione della sintesi di Paratormone (PTH) rappresentano la base teorica per nuovi e promettenti approcci terapeutici nell'iperparatiroidismo secondario.

Introduzione

Una delle complicanze più frequenti in corso di insufficienza renale cronica (IRC) è rappresentata dall'iperparatiroidismo secondario, caratterizzato da iperplasia delle ghiandole paratiroidiche e da aumentata sintesi e secrezione di PTH (1-3). L'incremento dei livelli sierici di PTH comunemente causa un danno a carico del tessuto osseo (osteodistrofia renale). Recentemente, è stato ben evidenziato che l'iperparatiroidismo secondario è causa di una tossicità sistemica, in particolar modo a livello dell'apparato cardiovascolare, aumentando il rischio di morbilità e di mortalità per causa cardiovascolare nei pazienti in dialisi (4-6). Da queste considerazioni nasce l'interesse per lo studio dei meccanismi alla base dell'alterato metabolismo minerale in corso di IRC.

Nei soggetti con funzione renale normale, il tessuto paratiroidico non prolifera e rimane in fase quiescente (fase G0 del ciclo cellulare). In corso di IRC, l'ipocalcemia, l'iperfosforemia e il deficit di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sono i tre fattori direttamente coinvolti nel determinare l'iperparatiroidismo (Fig. 1). L'iperfosforemia e il deficit di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, in parte indirettamente attraverso l'ipocalcemia, stimolano le cellule paratiroidiche a proliferare e a secernere più PTH (7), attraverso meccanismi sia trascrizionali che post-trascrizionali. Infatti, il calcio e l' $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ regolano la trascrizione del gene del PTH riducendo i propri recettori presenti sulle ghiandole paratiroidiche, rispettivamente i Calcium Sensing Receptor (CaSR) e i Vitamin D Receptor (VDR) (8, 9). La riduzione del contenuto paratiroidico dei CaSR e dei VDR rende le ghiandole paratiroidiche resistenti alla soppressione da parte del calcio e dell' $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, della secrezione di PTH (8). Il calcio e il fosforo controllano la sintesi di PTH a livello post-trascrizionale, attraverso un legame con proteine citosoliche del m-RNA del PTH, regolandone così la trascrizione stessa (10).

È altresì noto come variazioni dei livelli sierici di calcio, fosforo, e di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e contenuto paratiroidico di CaSR

e VDR abbiano anche un impatto drammatico sulla crescita del tessuto paratiroideo (1-3). Recentemente, sono stati considerati nuovi meccanismi molecolari alla base dell'eziopatogenesi dell'iperparatiroidismo secondario in corso di IRC, in special modo sulla regolazione dell'iperplasia paratiroidea da parte del calcio, del fosforo e dell' $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

Le ghiandole paratiroidee: dalla normalità all'iperplasia

Il tessuto ghiandolare paratiroideo è costituito da cellule a ridotto turnover che raramente vanno incontro a mitosi (1-3). Le cellule paratiroidee quiescenti proliferano in risposta a fattori pro-mitogeni, quali l'uremia, l'ipocalcemia, l'iperfosforemia e il deficit di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (11).

In Figura 2 è rappresentato un ciclo cellulare di una cellula paratiroidea. Le cellule paratiroidee rimangono in stato di quiescenza (fase G₀ del ciclo cellulare) per l'equilibrio esistente tra fattori di crescita e fattori anti-proliferanti. In sintesi, alcune forze proliferanti promuovono il passaggio delle cellule paratiroidee attraverso le differenti fasi del ciclo cellulare (G₁, S=sintesi, G₂, M=mitosi), attraverso l'attività di un complesso enzimatico fase-specifico composto da cicline e da chinasi ciclino-dipendenti (Cdk) (12, 13). Invece, la forza anti-proliferante inibisce la crescita cellulare ed è determinata da una famiglia di proteine, Cdk-inibitori, che lega il complesso ciclina/Cdk bloccandone l'attività. Stimoli alla mitosi come l'uremia, l'ipocalcemia, l'iperfosforemia e il deficit di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ inducono le cellule paratiroidee ad abbandonare lo stato quiescente e a dividersi o per incremento dell'attività dei complessi ciclina/Cdk, o per riduzione dei Cdk-inibitori, o per una combinazione di entrambi. Al contrario, stimoli inibitori dell'attività mitotica come l'ipercalcemia, l'ipofosforemia e la somministrazione di vitamina D possono arrestare la crescita cellulare attraverso la riduzione dell'attività dei complessi ciclina/Cdk, aumento dei livelli dei Cdk-inibitori o entrambi.

Diversi studi hanno mostrato una associazione tra iperplasia paratiroidea e modificazione dell'espressione paratiroidea dei regolatori del ciclo cellulare. La sovra-espressione di ciclina D1, indotta dal riarrangiamento del DNA del gene del PTH è un disordine presente in corso di iperparatiroidismo primitivo (14). L'importanza della ciclina D1 sulla crescita delle cellule paratiroidee è stata recentemente dimostrata anche da Imanishi et al (15) impiegando topi transgenici che sovra-esprimevano la ciclina D1. Questi topi lentamente hanno sviluppato iperplasia paratiroidea e, in alcuni casi, adenomi ghiandolari che mostrano riduzione di CaSR, mimando quello che accade in alcuni adenomi paratiroidei umani.

In corso di iperparatiroidismo secondario, invece, inizialmente le ghiandole paratiroidee crescono diffusamente e in

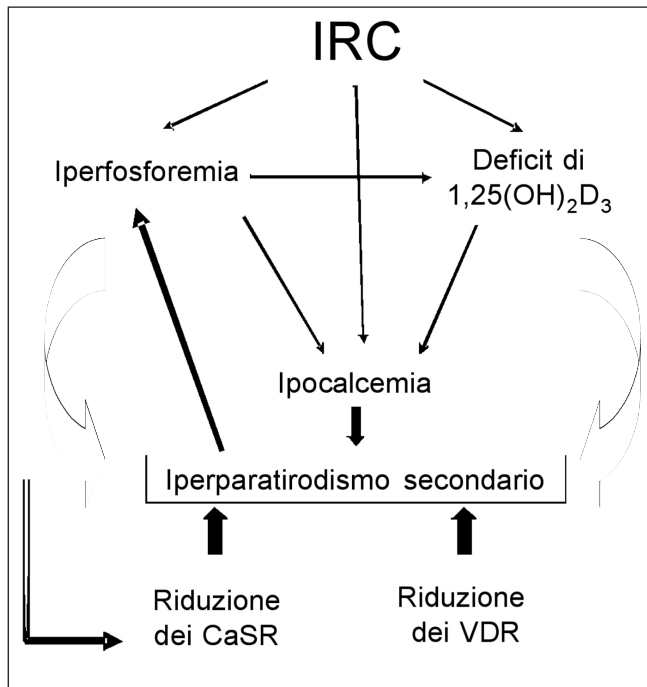


Fig. 1 - Meccanismi patogenetici dell'iperparatiroidismo secondario.

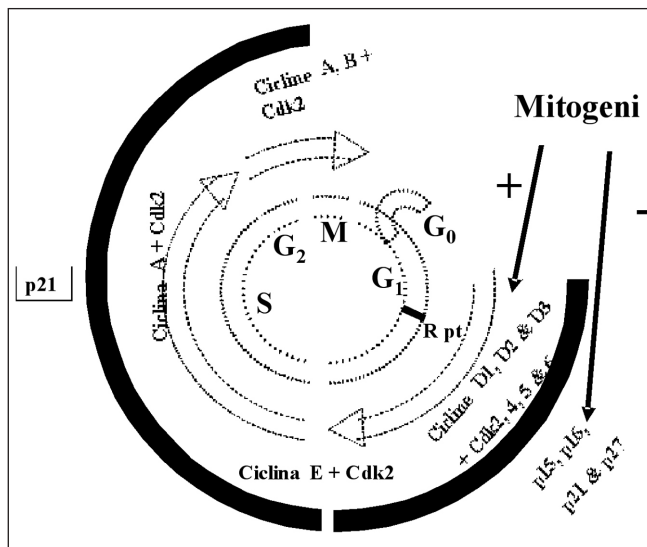


Fig. 2 - Schematizzazione di un ciclo cellulare di una cellula paratiroidea.

modo policlonale, per poi proliferare più aggressivamente e formare noduli paratiroidei a crescita monoclonale (16).

Variazioni nell'espressione di regolatori del ciclo cellulare, come la sovra-espressione della ciclina D1, sono state descritte anche in pazienti affetti da IRC (14). Studi condotti da Tominaga et al. (16), hanno dimostrato un aumento dell'espressione paratiroidea della ciclina D1 in forme di iperplasia nodulare. Inoltre, a differenza degli adenomi

paratiroidei, l'iperplasia nodulare secondaria all'uremia, non presenta correlazioni tra ciclina D1 e grado di mitosi. Ciò suggerisce che la sovra-espressione di ciclina D1 indotta dal riarrangiamento del gene del PTH non rappresenterebbe l'anomalia genetica primaria responsabile dell'iperproliferazione ghiandolare paratiroidea.

Infine, la rapida de-differenziazione delle cellule paratiroidee iperplastiche in coltura (17) ha precluso la valutazione del contributo relativo fornito dalle variazioni di calcio, fosforo e $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sull'espressione dei componenti del ciclo cellulare critici per il controllo della crescita paratiroidea. Pertanto, gli approcci sperimentali che identificano i meccanismi molecolari, critici nel disegno di nuovi orizzonti terapeutici, sono limitati *in vivo* ai modelli del ratto reso uremico tramite nefrectomia 5/6.

Test di verifica

1) In corso di iperparatiroidismo secondario, quali di queste affermazioni è falsa?

- Ipercalcemia, iperfosforemia e deficit di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sono gli attori patogenetici principali che concorrono allo sviluppo di iperparatiroidismo secondario
- L'iperfosforemia e il deficit di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ causano iperplasia paratiroidea attraverso meccanismi trascrizionali e post-trascrizionali
- I CaSR e i VDR sono ridotti
- Tutte le precedenti
- Nessuna delle precedenti.

2) Qual è l'ordine esatto delle fasi del ciclo cellulare?

- G0, G1, M, G2, S
- G0, S, G1, G2, M
- G0, G1, S, G2, M
- G0, G1, G2, S, M
- G0, G1, S, M, G2.

3) Quale fattore sembra avere un ruolo nella patogenesi sia dell'iperparatiroidismo primitivo che secondario?

- Ciclina B1
- Ciclina D1
- Cdk D1
- Ciclina E1
- Nessuna delle precedenti.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet www.sin-italy.org/gin e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

Ruolo del fosforo nell'iperparatiroidismo secondario

Gli effetti del fosforo nell'indurre iperparatiroidismo secondario possono schematicamente essere distinti in

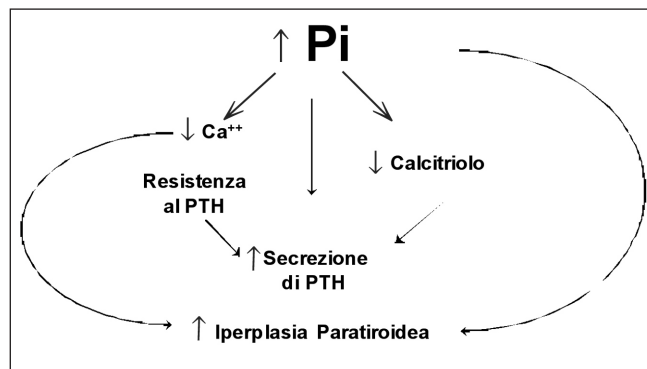


Fig. 3 - Azione del fosforo sulla funzione paratiroidea.

effetti indiretti e diretti (18). Inizialmente, è stato proposto che la ritenzione di fosfati determinasse ipocalcemia e quindi stimolazione della sintesi di PTH. Successivamente è stato riconosciuto l'importante ruolo del calcitriolo e quindi è stato ipotizzato che la ritenzione di fosfati determinasse una riduzione della sintesi di calcitriolo, un ridotto assorbimento intestinale di calcio, ipocalcemia e iperparatiroidismo. Poi, è stato riconosciuto il ruolo di inibizione diretta del calcitriolo sulla sintesi di PTH. Infine è stato proposto un ruolo diretto del fosforo nella regolazione della secrezione di PTH (Fig. 3).

Numerosi studi negli ultimi anni hanno confermato osservazioni precedenti di un effetto benefico della restrizione dietetica di fosfati nella prevenzione e nel controllo dell'iperparatiroidismo secondario, dimostrando che il fosforo può modulare i livelli sierici di PTH indipendentemente dalla gravità dell'insufficienza renale e anche se i livelli di calcitriolo restano invariati.

Il meccanismo molecolare dell'azione del fosforo sulla cellula paratiroidea è stato parzialmente chiarito da recenti studi *in vitro* eseguiti con ghiandole paratiroidee intatte, in cui viene mantenuta la normale architettura tissutale (19). Precedenti studi che utilizzavano cellule paratiroidee disperse in coltura non erano stati in grado di provare un effetto del fosforo sulla secrezione di PTH. Inoltre, va ricordato che nelle colture cellulari disperse vengono a mancare alcune proprietà essenziali della cellula paratiroidea, come l'espressione del recettore per il calcio (20). Il fosforo, come il calcio, influisce sull'espressione del gene del PTH con un meccanismo post-trascrizionale, determinando un cambiamento delle proteine citoplasmatiche che legano il mRNA del PTH in un'area non tradotta che conferisce stabilità della molecola di mRNA (21); i livelli di mRNA per il PTH non sono invece influenzati dalla fosforemia.

Negli ultimi cinque anni si sono meglio definiti i meccanismi molecolari attraverso i quali il fosforo regola anche l'iperplasia paratiroidea. Infatti, le variazioni dietetiche del fosforo sono in grado di modulare la proliferazione cellula-

re delle paratiroidi. In condizioni di restrizione di fosforo il numero di cellule proliferanti si riduce marcatamente rispetto ai controlli, mentre con una dieta ad alto contenuto di fosforo si osserva un aumento della proliferazione cellulare sia nel ratto normale che nell'uremico. Naveh-Manly et al (11) hanno chiaramente dimostrato come una dieta ricca in fosforo causa iperplasia paratiroidea in ratti uremici dopo 2 settimane di trattamento. La restrizione dietetica di fosfato previene completamente la crescita ghiandolare e l'iperparatiroidismo secondario. Recentemente, Dusso et al (22) hanno osservato che livelli ridotti di fosforo ridurrebbero l'iperplasia paratiroidea attraverso l'induzione del Cdk-inibitore, p21.

Nel modello sperimentale del ratto uremico, il ruolo della dieta a basso contenuto di P sull'espressione di p21 e, conseguentemente, sull'arresto della crescita della cellula paratiroidea è supportato dalla dimostrazione che aumenti temporali nell'espressione di p21 sono inversamente correlati con i livelli paratiroidi del marcatore dell'attività mitotica PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen). Nonostante le manipolazioni del contenuto dietetico di fosfato, non si hanno variazioni del contenuto di p21 e PCNA a livello intestinale, epatico o renale, supportando la specificità per le paratiroidi degli effetti antimitotici determinati dalla restrizione dietetica di fosforo.

Purtroppo però la dieta ad elevato contenuto di fosfato non determina effetti sull'espressione paratiroidea di p21 né a livello di mRNA né a livello di proteina e, conseguentemente, non è stato ancora dimostrato che la riduzione di p21 sia la causa delle proprietà mitogeniche dell'iperfosforemia nelle ghiandole paratiroidi dei ratti uremici. Nella ricerca degli stimoli mitogeni secondari alla dieta ad alto contenuto di fosfato si è studiato il contenuto paratiroideo di un fattore di crescita (TGF α , Transforming Growth Factor alpha) e del suo recettore (EGFR, Epidermal Growth Factor Receptor). È stato dimostrato come la restrizione dietetica di fosfato provochi una prevenzione della crescita delle ghiandole paratiroidi attraverso la riduzione dell'espressione di TGF α e EGFR. Al contrario, l'iperfosforemia è uno stimolo iperproliferante che provoca l'aumento del contenuto nelle cellule paratiroidi di questi due fattori di crescita (22, 23). In paratiroidi umane, Gogusev et al (24) hanno dimostrato la presenza di EGFR in 4 su 5 adenomi paratiroidi, in 13 su 15 iperplasie paratiroidi diffuse da iperparatiroidismo secondario e nella maggior parte dei campioni di tessuto paratiroideo normale.

Questi risultati indicano che l'induzione della co-espressione a livello paratiroideo di TGF α e del suo recettore EGFR determina un segnale mitogenico che è ulteriormente stimolato dall'incremento del fosfato dietetico e che può essere prevenuto da un regime ipofosforemico. Queste sono nuove scoperte circa i meccanismi molecolari associati ai potenti effetti della regolazione della crescita paratiroidea attraverso il fosforo.

Questo suggerisce che, oltre alla riduzione dell'introito di fosforo con la dieta e all'uso di chelanti del fosfato, le nuove strategie terapeutiche potrebbero orientarsi sull'induzione di p21 e sull'inattivazione dei segnali promuoventi la crescita, quali TGF α ed EGFR. In questo modo potrebbe essere anche più efficace rallentare la progressione dell'iperparatiroidismo secondario.

Test di verifica

1) L'iperfosforemia:

- Induce iperplasia paratiroidea
- Aumenta la sintesi di PTH
- Aumenta la secrezione di PTH
- Tutte le precedenti
- Nessuna delle precedenti.

2) Nel modello sperimentale del ratto uremico, una dieta a basso contenuto di fosforo previene l'iperplasia paratiroidea attraverso:

- La ridotta espressione di p21
- L'aumentata espressione di PCNA
- La ridotta espressione di EGFR
- L'aumentata espressione di TGF α
- Tutte le precedenti.

3) Quale fattore non gioca un ruolo nella patogenesi dell'iperplasia paratiroidea in corso di uremia e iperfosforemia?

- TGF α
- TGF β
- EGFR
- Tutte le precedenti
- Nessuna delle precedenti.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet www.sin-italy.org/gin e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

Vitamina D e iperparatiroidismo secondario

Molti studi hanno dimostrato il ruolo della vitamina D (1,25(OH) $_2$ D $_3$) nella soppressione della crescita delle cellule paratiroidi *in vitro* (25) e nel controllo dell'iperplasia paratiroidea *in vivo*, nel modello del ratto uremico (26). In linee cellulari normali e modificate, gli effetti antiproliferativi di 1,25(OH) $_2$ D $_3$ avvengono grazie all'attivazione di particolari proteine che regolano in modo negativo il ciclo cellulare (p21), attraverso meccanismi trascrizionali che richiedono l'attivazione dei VDR (27). È quindi ipotizzabile che i meccanismi di arresto della crescita cellulare indotti da 1,25(OH) $_2$ D $_3$ siano operativi anche a livello paratiroideo. Un ulteriore meccanismo di soppressione della proliferazione paratiroidea da parte di 1,25(OH) $_2$ D $_3$ è mediato dalla ridotta espressione di *c-myc*, un gene associato alla

prima fase della replicazione cellulare (fase G1-S del ciclo cellulare) (28).

L'iperfosforemia è la principale causa di resistenza alla vitamina D. Studi preliminari hanno esaminato l'efficacia del trattamento con vitamina D o suoi analoghi in contrapposizione agli stimoli mitogeni indotti dall'uremia e dall'iperfosforemia (23). Dosi di 4 ng di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e 30 ng di $19\text{-nor-}1,25(\text{OH})_2\text{D}_2$ possono controllare l'iperplasia paratiroidea senza effetti ipercalcemizzanti o iperfosforemizzanti (23). Quindi, nel modello del ratto uremico, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e il suo analogo meno ipercalcemizzante, $19\text{-nor-}1,25(\text{OH})_2\text{D}_2$, sono risultati parimenti efficaci nel ridurre i livelli sierici di PTH e nel controllare l'iperplasia paratiroidea. La somministrazione di vitamina D induce aumentata espressione di p21 e studi condotti in pazienti con iperparatiroidismo secondario (29) convalidano questi risultati ottenuti nel modello animale. Inoltre, la terapia con $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ o $19\text{-nor-}1,25(\text{OH})_2\text{D}_2$ previene l'aumento dell'espressione paratiroidea di $\text{TGF}\alpha$ e EGFR indotto dall'uremia (23).

Altri meccanismi possono contribuire alle proprietà anti-proliferative di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, come dimostrato nella terapia sperimentale del tumore della mammella (30). In aggiunta all'induzione di p21 e alla riduzione dell'espressione di c-myc, gli effetti inibitori di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sul ciclo cellulare, nella transizione dalla fase G1 alla fase S, includono la prevenzione dell'attivazione del complesso ciclina D1/cdk4 senza associazione dell'aumento di p21 (30). Presi insieme questi risultati suggeriscono che gli effetti combinati di deficit di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e resistenza alla sua azione nei pazienti con IRC di grado avanzato, in concomitanza con la presenza di iperfosforemia, possono contribuire al passaggio da iperplasia diffusa a iperplasia nodulare aggressiva.

Potenziali meccanismi includono il simultaneo aumento dell'espressione di EGFR e $\text{TGF}\alpha$ nelle ghiandole paratiroidi così come la riduzione di p21 paratiroidea e i segnali antimitogeni mediati da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3/\text{VDR}$. Uno degli obiettivi futuri è l'identificazione dei meccanismi molecolari, mediati dalla vitamina D, della crescita di $\text{TGF}\alpha$ ed EGFR in paratiroidi iperplastiche al fine di formulare nuove strategie terapeutiche per arrestare la crescita ghiandolare paratiroidea (31, 32).

L'espressione a livello paratiroideo di fattori di crescita e markers di attività mitotica rendono conto dell'efficacia della vitamina D nell'arrestare la crescita ghiandolare, prevenendo così l'iperplasia, anche se i meccanismi molecolari alla base della soppressione della secrezione di PTH e dell'iperplasia paratiroidea non sono stati ancora del tutto chiariti (Fig. 4).

La limitazione principale della terapia dell'iperparatiroidismo secondario con calcitriolo è rappresentata dall'incremento dei livelli di calcemia e fosfatemia. Quando il prodotto calcio-fosforo è superiore a $55 \text{ mg}^2/\text{dL}^2$ la somministrazione di calcitriolo viene generalmente interrotta e successivamente ripresa con una dose inferiore, determinando in alcuni casi

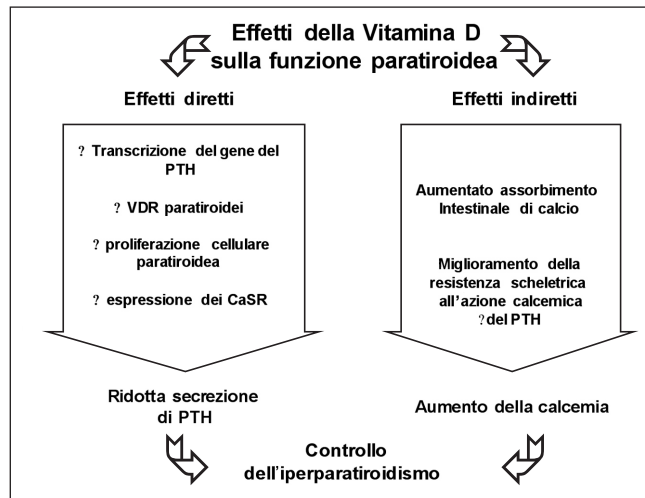


Fig. 4 - Azione della vitamina D sulla funzione paratiroidea.

una scarsa risposta al trattamento. Per risolvere questo problema sono stati sintetizzati diversi analoghi del calcitriolo che hanno una scarsa attività calcemica e fosfatemica, ma conservano la capacità di soppressione del PTH (33). Tra questi nuovi farmaci quelli in fase più avanzata di studio sono il 22-oxacalcitriolo o OCT, il $19\text{-nor-}1,25(\text{OH})_2\text{D}_2$ o paricalcitol e l' 1α -idrossivitamina- D_2 o $1\alpha\text{-D}_2$.

Il paricalcitol in particolare viene utilizzato ampiamente negli Stati Uniti, con buoni risultati. Dal 2005 anche in Italia è possibile utilizzare quest'analogo della vitamina D. In studi recenti sul modello sperimentale del ratto uremico, il paricalcitol si è dimostrato efficace nel controllo della secrezione del PTH e nella prevenzione dell'iperplasia paratiroidea, al pari del calcitriolo o di $1\alpha\text{-D}_2$, ma con effetti collaterali significativamente minori sui livelli sierici di calcio e fosforo (34). Inoltre, il $19\text{-nor-}1,25(\text{OH})_2\text{D}_2$ è stato utilizzato nel trattamento dell'iperparatiroidismo secondario in pazienti in trattamento dialitico sostitutivo (35). Recentemente, Teng et al (36) hanno dimostrato come pazienti dializzati con iperparatiroidismo secondario trattati con paracalcitolo avessero una sopravvivenza di circa il 18% superiore rispetto a coloro che erano stati trattati con calcitriolo.

Ruolo del calcio nell'iperparatiroidismo secondario

In corso di IRC di grado avanzato si osserva comunemente ipocalcemia, secondaria a un ridotto assorbimento intestinale di calcio per la carenza di calcitriolo, spesso associata a una dieta povera di calcio. Sebbene sia possibile osservare iperparatiroidismo nonostante il mantenimento di una calcemia normale con supplementi di calcio, non va dimenticato che l'ipocalcemia è comunque un forte stimolo alla secrezione di PTH e pertanto quando è presente va corretta. Nel lungo termine la presenza di ipocalcemia

TABELLA I - AZIONE DEL CALCIO SULLA FUNZIONE PARATIROIIDEA

Blocco della secrezione del paratormone
Induzione della degradazione del paratormone
Destabilizzazione del mRNA del paratormone
Blocco della trascrizione del gene del paratormone
Inibizione dell'iperplasia paratiroidea

cronica determina ipertrofia e probabilmente iperplasia delle paratiroidi; in corso di ipocalcemia è stata anche dimostrata la stimolazione della produzione di mRNA per il PTH (11), indicando che l'ipocalcemia non influenza solo la secrezione, ma anche la sintesi di PTH. Inoltre, studi recenti hanno dimostrato come l'ipocalcemia parallelamente all'iperfosforemia rappresenti uno stimolo iperproliferante diretto per le cellule paratiroidi, nel modello sperimentale del ratto uremico dopo solo 7 giorni di insufficienza renale cronica (23).

Una riduzione dei livelli di calcemia determina un aumento della secrezione per esocitosi di PTH intatto (o PTH 1-84) precedentemente sintetizzato e immagazzinato in granuli di secrezione nella cellula paratiroidea; viceversa la secrezione di PTH diminuisce quando la calcemia aumenta. Dal momento che l'emivita del PTH intatto nella circolazione varia da 3 a 5 minuti, i suoi livelli sierici calano rapidamente quando la calcemia si alza. Nella Tabella I sono riassunti le principali azioni del calcio sulla funzionalità paratiroidea.

Nel modello sperimentale animale di insufficienza renale cronica, più utilizzato per lo studio della patogenesi dell'iperparatiroidismo secondario, la nefrectomia 5/6 nel ratto, elevate concentrazioni di calcio nella dieta controllano l'iperplasia paratiroidea in corso di uremia, come dimostrato dalla riduzione delle dimensioni delle ghiandole paratiroidi e dalla ridotta espressione di markers di attività mitotica (23). Inoltre, TGF α ed EGFR sono ridotti nelle paratiroidi dei ratti nutriti con dieta ricca di calcio. In contrapposizione ai meccanismi antiproliferativi di una dieta a elevato contenuto di calcio, il ridotto introito di calcio dietetico incrementa l'iperplasia ghiandolare attraverso l'aumento dell'espressione paratiroidea del TGF α ed EGFR (23). È molto importante sottolineare che questi sono risultati ottenuti in studi sperimentali che servono esclusivamente a riconoscere e a meglio comprendere i meccanismi patogenetici di una patologia assai frequente nei pazienti con insufficienza renale cronica di grado avanzato. È comunque improponibile utilizzare tali modelli nella sperimentazione clinica, in quanto le modificazioni dietetiche "alto calcio" o "basso calcio" porterebbero a complicanze gravi quali calcificazioni cardiovascolari od osteoporosi.

Nemeth et al (37) avevano ipotizzato la presenza di un recettore di membrana per il calcio (calcium-sensing receptor o CaR), permettendo una migliore comprensione

dei meccanismi molecolari di percezione delle variazioni del livello di calcio extracellulare da parte della cellula paratiroidea. Non è ancora stato chiarito se l'espressione del CaR sia modulata, e in caso affermativo da quali fattori: mentre un gruppo di ricercatori non sono stati in grado di osservare una regolazione del mRNA del CaR da parte del calcio o del calcitriolo plasmatici in ratti uremici o carenti di vitamina D (38), un altro gruppo ha rilevato una stimolazione (up-regulation) della sua espressione da parte del calcitriolo (39).

Nei pazienti emodializzati sembra essere presente una ridotta espressione (down-regulation) del CaR paratiroideo, sia della proteina che del mRNA (40); la riduzione sembra essere particolarmente accentuata nelle aree nodulari del tessuto paratiroideo iperplastico. Questa osservazione concorda con l'ipotesi che quando si osservano numerosi noduli si ha una maggiore gravità dell'iperparatiroidismo secondario e resistenza alla terapia medica.

Un approccio alternativo volto a ridurre la secrezione di PTH minimizzando il problema dell'aumento della calcemia è rappresentato dalla somministrazione di farmaci agonisti del recettore per il calcio (Ca-sensing receptor) nella ghiandola paratiroide.

Recentemente, Mizobuchi et al (41) hanno osservato come il calcio-mimetico NPS R-568 riesca a riportare verso la normalità l'espressione paratiroidea dei CaSR in ratti affetti da insufficienza renale cronica. Inoltre, Block et al. (42) hanno dimostrato l'efficacia del calcio-mimetico cinacalcet nel ridurre i livelli di PTH senza aumentare il prodotto calcio-fosforo, in oltre 350 pazienti in dialisi con iperparatiroidismo secondario.

Test di verifica

1) 1,25(OH) $_2$ D $_3$ controlla l'iperplasia paratiroidea attraverso:

- La ridotta espressione paratiroidea di p21
- La ridotta espressione di *c-myc*
- L'aumento del contenuto paratiroideo di ciclina D1
- L'aumento dell'espressione paratiroidea di p27
- L'aumento del contenuto ghiandolare di TGF α ed EGFR.

2) Quale analogo della vitamina D sarà presto disponibile in Italia?

- Paracalcitolo
- 22-oxacalcitriolo
- 1 α -idrossivitamina-D2
- Nessuno dei precedenti
- Tutti i precedenti.

3) Quale sarà il nuovo scenario terapeutico per i pazienti affetti da iperparatiroidismo secondario?

- Idrossido di alluminio + paracalcitolo + cinacalcet.
- Chelanti del fosforo non contenenti Ca né Al + calcitriolo *per os*

- c. Chelanti del fosforo non contenenti Ca né Al + paracalcitolo + cinacalcet
- d. Chelanti del fosforo non contenenti Ca né Al + calciotriolo ev + cinacalcet
- e. Nessuna delle precedenti.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet www.sin-italy.org/gin e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

Conclusioni

Sicuramente negli ultimi anni la ricerca di base nel campo dell'iperparatiroidismo secondario ha portato a conoscenze nuove sui meccanismi molecolari alla base dell'iperplasia paratiroidea e della secrezione di PTH. La dimostrazione che i tre regolatori principali della crescita delle ghiandole paratiroidi (calcio, fosforo e vitamina D) regolano l'espressione di proteine di fondamentale importanza nella regolazione del ciclo cellulare, quali p21, TGF α ed EGFR, indica l'importanza di questi meccanismi nella patogenesi dell'iperplasia paratiroidea, aprendo una porta completamente nuova su possibili strategie terapeutiche più efficaci per pazienti affetti da iperparatiroidismo secondario.

Riassunto

L'iperparatiroidismo secondario è una delle complicanze più frequenti in corso di insufficienza renale cronica (IRC). Infatti, è ben noto come nel paziente con IRC l'iperfosforemia, l'ipocalcemia e la carenza di vitamina D costituiscono i tre meccanismi promotori dell'iperplasia paratiroidea e della aumentata secrezione e sintesi di PTH.

Iperfosforemia e deficit di 1,25(OH) $_2$ D $_3$, in parte indirettamente attraverso l'ipocalcemia, stimolano le cellule paratiroidi a proliferare e, conseguentemente, a incrementare

la secrezione di PTH attraverso meccanismi trascrizionali e post-trascrizionali. Livelli elevati di PTH se da un lato determinano danni a carico del tessuto osseo (osteodistrofia renale), dall'altro causano una vera e propria tossicità sistemica, in particolare a carico dell'apparato cardiovascolare, aumentando il rischio di mortalità e morbilità nei pazienti in dialisi.

negli ultimi anni la ricerca nel campo dell'iperparatiroidismo secondario ha portato a conoscenza nuovi meccanismi molecolari alla base dell'iperplasia paratiroidea e della secrezione di PTH. I tre principali regolatori della crescita delle ghiandole paratiroidi (calcio, fosforo e vitamina D) regolano attivamente l'espressione di proteine inibitorie del ciclo cellulare (p21) e di fattori di crescita (TGF α ed EGFR).

I modelli sperimentali di IRC e l'identificazione di nuovi meccanismi molecolari coinvolti nelle variazioni dei livelli plasmatici di Ca, P, 1,25(OH) $_2$ D $_3$ possono portare a identificare nuove possibili strategie terapeutiche, più efficaci nel trattamento dell'iperparatiroidismo secondario, in corso di uremia.

Indirizzo degli Autori:
Dr. Mario Cozzolino
U.O. Nefrologia e Dialisi
Azienda Ospedaliera San Paolo
Polo Universitario
Via A. di Rudini, 8
20142 Milano
e-mail: mariocozzolino@hotmail.com

Bibliografia

1. Parfitt AM. The hyperparathyroidism of chronic renal failure: A disorder of growth. *Kidney Int* 1997; 52: 3-9.
2. Slatopolsky E, Finch J, Denda M, et al. Phosphorus restriction prevents parathyroid gland growth. High phosphorus directly stimulates PTH secretion *in vitro*. *J Clin Invest* 1996; 97: 2534-40.
3. Silver J, Bar Sela S, and Naveh-Many T. Regulation of parathyroid cell proliferation. *Curr Op Nephrol Hyperten* 1997; 6: 321-6.
4. Cozzolino M, Dusso A, Slatopolsky E. Role of calcium x phosphate product and bone associated proteins on vascular calcification in renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2511-6.
5. Cozzolino M, Brancaccio D, Gallieni M, and E. Slatopolsky. Pathogenesis of vascular calcification in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2005; 68: 429-36.
6. Cozzolino M, Galassi A, Bellasi A, et al. Prevenzione delle calcificazioni extrascheletriche nel paziente uremico. *G Ital Nefrol* 2005; 22 (Suppl 31): S53-5.
7. Cozzolino M, Brancaccio D, Gallieni M, et al. Pathogenesis of parathyroid hyperplasia in renal failure. *J Nephrol*, 2005; 18 (1): 5-8.
8. Brown EM, Gamba G, Riccardi D, et al. Cloning and characterization of an extracellular Ca $^{2+}$ -sensing receptor from bovine

- parathyroid. *Nature* 1993; 366: 575-80.
9. Merke J, Hugel U, Zlotkowski A, et al. Diminished parathyroid 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors in experimental uremia. *Kidney Int* 1987; 32: 350-3.
 10. Silver J, Kilav R, Naveh-Many T. Mechanisms of secondary hyperparathyroidism. *Am J Physiol Ren Physiol* 2002; 283: F367-76.
 11. Naveh-Many T, Rahaminow R, Livni N, Silver J. Parathyroid cell proliferation in normal and chronic renal failure in rats: The effects of calcium, phosphate and vitamin D. *J Clin Invest* 1995; 96: 1786-93.
 12. Pestell RG, Albanese C, Reutens AT, et al. The cyclins and cyclin-dependent kinase inhibitors in hormonal regulation of proliferation and differentiation. *Endocrine Reviews* 1999; 20 (4): 501-34.
 13. Nasmyth K. Viewpoint: Putting the cell cycle in order. *Science* 1996; 74: 1643-5.
 14. Vasef MA, Brynes RK, Sturm M, et al. Expression of cyclin D1 in parathyroid carcinomas, adenomas, and hyperplasia: a paraffin immunohistochemical study. *Mod Pathol* 1999; 12: 412-6.
 15. Imanishi Y, Hosokawa Y, Yoshimoto K, et al. Primary hyperparathyroidism caused by parathyroid-targeted overexpression of cyclin D1 in transgenic mice. *J Clin Invest* 2001; 107: 1093-101.
 16. Tominaga Y, Tsuzuki T, Uchida K, et al. Expression of Prad1/cyclin D1, retinoblastoma gene products, and Ki67 in parathyroid hyperplasia caused by chronic renal failure versus primary adenoma. *Kidney Int* 1999; 55: 1375-83.
 17. Wang Q, Palnitkar S, Parfitt AM. Parathyroid cell proliferation in normal human parathyroid tissue: implications for the pathogenesis of hyperparathyroidism. *Clin Endocrinol* 1997; 46: 343-9.
 18. Rodriguez M, Almaden Y, Hernandez A, Torres A. Effect of phosphate on the parathyroid gland: direct and indirect? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1996; 5: 321-8.
 19. Almaden Y, Canalejo A, Hernandez A, et al. Direct effect of phosphorus on PTH secretion from whole rat parathyroid glands *in vitro*. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 970-6.
 20. Brown AJ, Zhong M, Ritter C, et al. Loss of calcium responsiveness in cultured bovine parathyroid cells is associated with decreased calcium sensing receptor expression. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 212: 861-7.
 21. Kilav R, Silver J, Naveh-Many. Parathyroid hormone gene expression in hypophosphatemic rats. *J Clin Invest* 1995; 96: 327-33.
 22. Dusso AS, Pavlopoulos T, Naumovich L, et al. p21^{waf1} and TGFalpha mediate dietary phosphate-regulation of parathyroid cell growth. *Kidney Int* 2001; 59: 855-65.
 23. Cozzolino M, Lu Y, Finch J, et al. p21^{waf1} and TGFalpha mediate parathyroid growth arrest by vitamin D and high calcium. *Kidney Int* 2001; 60: 2109-17.
 24. Gogusev J, Duchambon P, Soermann-Chopard C, et al. *De novo* expression of transforming growth factor-alpha in parathyroid gland tissue of patients with primary or secondary uraemic hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 2155-62.
 25. Kremer R, Bolivar I, Golztman D, Hendly GN. Influence of calcium and 1,25-dihydroxycholecalciferol on proliferation and proto-oncogene expression in primary cultures of bovine parathyroid cells. *Endocrinology* 1989; 125: 935-41.
 26. Szabo A, Merke J, Beier E, et al. 1,25(OH)₂ vitamin D₃ inhibits parathyroid cell proliferation in experimental uremia. *Kidney Int* 1989; 35: 1049-56.
 27. Liu M, Lee MH, Cohen M, et al. Transcriptional activation of Cdk inhibitor p21 by vitamin D₃ leads to the induced differentiation of the myelomonocytic cell line U937. *Gene Develop* 1996; 10: 142-53.
 28. O'Connell TD, Simpson RU. 25-Dihydroxyvitamin D₃ regulation of myocardial growth and *c-myc* levels in the rat heart. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 213: 59-65.
 29. Tokumoto M, Tsuruya K, Fukuda H, et al. Reduced p21, p27 and vitamin D receptor in the nodular hyperplasia in patients with advanced secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2002; 62: 1196-207.
 30. Jensen SS, Madsen MW, Lukas J, et al. Inhibitory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on the G1-S phase-controlling machinery. *Mol Endocrinol* 2001; 15: 501-7.
 31. Dusso A, Cozzolino M, Lu Y, Sato T, Slatopolsky E. 1,25-Dihydroxyvitamin D downregulation of TGFalpha/EGFR expression and growth signaling: a mechanism for the antiproliferative actions of the sterol in parathyroid hyperplasia of renal failure. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004; 89-90: 507-11.
 32. Cordero JB, Cozzolino M, Lu Y, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D downregulates cell membrane growth- and nuclear growth-promoting signals by the epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem* 2002; 277: 38965-71.
 33. Brown AJ, Finch JL, Lopez-Hilker S, et al. New active analogues of vitamin D with low calcemic activity. *Kidney Int* 1990; 38 (Suppl): S22-7.
 34. Slatopolsky E, Cozzolino M, Finch J. Differential effects of 19-Nor-1,25-(OH)₂D₃ and 1alpha-hydroxyvitamin D₂ on calcium and phosphorus in normal and uremic rats. *Kidney Int* 2002; 62: 1277-84.
 35. Sprague SM, Llach F, Amdahl M, et al. Paracalcitol versus calcitriol in the treatment of secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2003; 63(4): 1483-90.
 36. Teng M, Wolf M, Lowrie E, et al. Survival of patients undergoing hemodialysis with paracalcitol or calcitriol therapy. *N Engl J Med* 2003; 349: 446-56.
 37. Nemeth EF, Scarpa A. Rapid mobilization of cellular Ca⁺⁺ in bovine parathyroid cells evoked by extracellular divalent cations. Evidence for a cell surface calcium receptor. *J Biol Chem* 1987; 262: 5188-96.
 38. Rogers K, Fox J. Parathyroid gland calcium receptor mRNA levels unaffected by chronic renal insufficiency or low dietary calcium in rats. *Endocrinology* 1995; 3: 769-74.
 39. Brown A, Zhong M, Finch J, et al. Rat calcium-sensing receptor is regulated by vitamin D but not by calcium. *Am J Physiol* 1996; 270: F454-60.
 40. Kifor O, Moore F, Wang P, et al. Reduced immunostaining for the extracellular Ca²⁺ sensing receptor in primary and uremic secondary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1598-606.
 41. Mizobuchi M, Hatamura I, Ogata H, et al. Calcimimetic compound upregulates decreased calcium-sensing receptor expression level in parathyroid glands of rats with chronic renal insufficiency. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2579-87.
 42. Block GA, Martin KJ, de Francisco AL, et al. Cinacalcet for secondary hyperparathyroidism in patients receiving hemodialysis. *N Engl J Med* 2004; 350(15): 1516-25.