

Alma Mater Studiorum-Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN

Scienze Mediche Specialistiche

Ciclo 29°

Settore Concorsuale di afferenza: 06/D2

Settore Scientifico disciplinare: MED/14

IPERPARATIROIDISMO SECONDARIO PERSISTENTE IPERCALCEMICO NEL PAZIENTE TRAPIANTATO RENALE: CONFRONTO TRA CALCIOMIMETICO E PARICALCITOLO. STUDIO PILOTA

Presentata da: Dott.ssa Maria Luisa Muci

**Coordinatore Dottorato
Relatore**

**Chiar.mo Prof. Gaetano Domenico Gargiulo
Chiar.mo Prof. Sandro Mazzaferro**

Esame finale anno 2017

ABSTRACT

IPERPARATIROIDISMO SECONDARIO PERSISTENTE (IPSP) IPERCALCEMICO NEL PAZIENTE TRAPIANTATO RENALE (TX): CONFRONTO TRA CALCIOMIMETICO E PARICALCITOLO. STUDIO PILOTA

Le alterazioni del metabolismo minerale dei pazienti in dialisi non sempre si risolvono con il trapianto (TX) e persistono come Iperparatiroidismo secondario ipercalcemico (IPSP) nel 15-20% dei casi. La terapia soppressiva del PTH con calcitriolo è preclusa dall'ipercalcemia, mentre il paricalcitolio ed il calciomimetico rappresentano nuove possibilità terapeutiche.

OBIETTIVO Confrontare l'efficacia del Calciomimetico e del Paricalcitolio nel trattamento dell'IPSP ipercalcemico in monoterapia e in associazione.

METODI Abbiamo arruolato in uno studio prospettico 19 pazienti TX (età 54 ± 7 anni; CICr 58 ± 20 ml/min) con IPSP ipercalcemico. Dopo correzione dell'ipercalcemia (terapia con Calciomimetico per 4 settimane, FASE 1), 16 pazienti sono stati randomizzati (1:1) a Calciomimetico o Paricalcitolio per 12 settimane (FASE 2). Dopo un wash-out di 4 settimane, è stata effettuata terapia combinata per altre 12 settimane (FASE 3). I parametri biochimici sierici ed urinari sono stati determinati con cadenza mensile.

RISULTATI Nella FASE 1 si è osservato: correzione dell'ipercalcemia ($11,06\pm 0,5 \rightarrow 9,79\pm 0,42$ mg/dl, $p<.0001$), riduzione del PTH ($133\pm 43 \rightarrow 100\pm 37$ pg/ml, $p<.02$) e dell'FGF23 ($80\pm 24 \rightarrow 58\pm 17$ pg/ml, $p<.006$) ed aumento della fosforemia ($2,7\pm 0,4 \rightarrow 3,2\pm 0,5$ mg/dl, $p<.006$). Nella FASE 2 il Paricalcitolio ha riaumentato Calcemia ($9,7\pm 0,4 \rightarrow 10,8\pm 0,4$ mg/dl, $p<.0001$) ed FGF23 ($65\pm 17 \rightarrow 112\pm 89$ pg/ml, $p<.005$) e ridotto la BALP ($38\pm 44 \rightarrow 32\pm 38$ U/l, $p<.002$), mentre il Calciomimetico non ha prodotto ulteriori modifiche. Nella FASE 3 la Calcemia ($10,8\pm 0,6 \rightarrow 10,0\pm 0,6$ mg/dl, $p<.01$) ed il PTH ($116\pm 48 \rightarrow 79\pm 30$ pg/ml, $p<.02$) si sono ridotti, con stabilità della BALP. Non abbiamo osservato cambiamenti della funzione renale, dei parametri urinari e dei livelli dei farmaci immunosoppressori.

DISCUSSIONE e CONCLUSIONI Il Calciomimetico, nel breve termine, riduce Calcemia e PTH. Il Paricalcitolio mantiene la soppressione paratiroidea mostrando anche un effetto specifico sull'osso. La terapia combinata risulta più efficace, a parità di dosi, nel controllo di PTH, calcemia e turnover osseo senza effetti collaterali e si propone pertanto come strategia medica vantaggiosa nei pazienti con IPSP Ipercalcemico.

INDICE

1.INTRODUZIONE

2.PATOGENESI DELL'IPERPARATIROIDISMO SECONDARIO PERSISTENTE (IPSP) IPERCALCEMICO

3.COMPLICANZE DELL'IPERPARATIROIDISMO SECONDARIO PERSISTENTE IPERCALCEMICO

4.STRATEGIE TERAPEUTICHE

5.STUDIO SPERIMENTALE

- Scopo del lavoro

- Disegno dello studio

- Pazienti e metodi

- Risultati

-Discussione e conclusioni

6.BIBLIOGRAFIA

INTRODUZIONE

Il trapianto renale rappresenta la soluzione terapeutica ottimale in corso di insufficienza renale terminale, tuttavia il ripristino della funzione renale non sempre è sufficiente a correggere tutte le alterazioni metaboliche spesso instauratesi nel lungo periodo di uremia.

In particolare le alterazioni che riguardano il metabolismo, nella maggior parte dei pazienti, mostrano un rapido miglioramento in termini di normalizzazione dei livelli sierici di calcemia, fosforemia e calcitriolo, con conseguente riduzione dei livelli di paratormone (PTH) generalmente entro il primo anno dal trapianto. Forme più gravi di iperparatiroidismo secondario (IPS) hanno invece una più lenta risoluzione e sono più spesso associate ad ipercalcemia [1].

Infatti, dopo circa un anno dal trapianto renale, valori elevati di PTH, frequentemente associati ad ipercalcemia ed ipofosforemia, vengono osservati in circa il 15-20% dei pazienti [2].

L'IPS persistente (IPSP) associato ad ipercalcemia può avere un impatto clinico importante in termini di morbilità e mortalità, nei pazienti portatori di trapianto renale, sia attraverso effetti diretti sul graft, che attraverso manifestazioni

sistemiche a carico di altri organi o apparati (apparato cardiovascolare, apparato ematopoietico) [3].

Studi di follow-up a lungo termine mostrano una prevalenza di IPSP anche fino a quattro anni di trapianto ben funzionante, con necessità di un intervento chirurgico di paratiroidectomia nell'8% dei pazienti [4].

PATOGENESI DELL'IPERPARATIROIDISMO SECONDARIO PERSISTENTE (IPSP) IPERCALCEMICO

Dopo un trapianto renale ben funzionante, si assiste ad una riduzione dei livelli di PTH che è più evidente nei primi tre mesi [5]. Sebbene le concentrazioni sieriche di PTH in alcuni casi si normalizzino, in circa un terzo dei pazienti si mantengono al di sopra della norma fino a sei mesi dopo il trapianto, ed alcuni di essi presentano valori persistentemente elevati fino a circa cinque anni dopo il trapianto. Questa condizione di persistenza dell'iperparatiroidismo, di frequente associata ad ipercalcemia, si manifesta in circa il 20% dei pazienti, ed è stata largamente attribuita alla gravità dell'iperplasia ghiandolare paratiroidea [5].

Nonostante l'eziopatogenesi dell'ipercalcemia non sia stata ancora ben chiarita, oltre ad altre possibili condizioni che inducono ipercalcemia (come l'aumentato riassorbimento osseo, il ripristino dei livelli di calcitriolo ed il tipo di terapia immunosoppressiva), si pensa che i principali fattori identificati come potenziali cause dell'ipercalcemia associata ad IPSP siano rappresentati dal maggior numero di anni di terapia dialitica, dal grado di severità di iperparatiroidismo che caratterizza i pazienti prima del trapianto, dal volume ghiandolare paratiroideo e dall'iperplasia nodulare e/o monoclonale delle ghiandole paratiroidee [6].

Sebbene sia stata osservata una possibile regressione dell'iperplasia ghiandolare (di tipo diffuso) tra il terzo ed il sesto mese dopo il trapianto [3], il processo di involuzione ghiandolare potrebbe richiedere da pochi mesi a diversi anni, e gradi di iperplasia più avanzata (nodulare) potrebbero essere poco responsivi alla normalizzazione dei parametri umorali secondari al trapianto, ed andare difficilmente incontro alla regressione spontanea [3]. La lenta involuzione ghiandolare dopo il trapianto è da riferire innanzitutto alla lunga sopravvivenza delle cellule paratiroidee (approssimativamente di 20 anni) con un tasso di rinnovamento cellulare pari a circa il 5% l'anno [7]. Inoltre il grado di iperplasia influenza la suscettibilità delle cellule ai fattori che ne modulano la sopravvivenza. Nell'iperplasia ghiandolare è notoriamente presente una ridotta espressione dei vitamin D receptor (VDR) e dei calcium- sensing- receptor (CaSR), condizione che esacerba ulteriormente la resistenza ghiandolare delle paratiroidi alla normalizzazione dei livelli di calcemia e di calcitriolo indotta dal trapianto, e quindi la persistenza dell'iperparatiroidismo oppure la tendenza al peggioramento [8].

Diversi studi hanno valutato le variazioni della calcemia seguenti al trapianto ed hanno riportato spesso dati molto variabili riguardo l'incidenza di questa alterazione (da meno del 10% ad oltre il 50%). Probabilmente il motivo di tali discrepanze potrebbe essere attribuito alla diversa natura di tutti gli studi effettuati, al numero ridotto di pazienti osservati ed ai differenti intervalli di tempo considerati [6].

Un altro fattore da tenere presente nella valutazione dell'incidenza di ipercalcemia è il metodo di determinazione della calcemia. Infatti, quando l'ipercalcemia viene valutata considerando la calcemia totale si può avere una sottostima della stessa nei primi tre mesi dopo il trapianto, e una sovrastima nei mesi successivi, rispetto a quando venga utilizzata la misurazione del calcio ionizzato o del calcio corretto per i valori di albuminemia. Questa differenza è dovuta ad una significativa riduzione della sintesi di albumina nei primi mesi dopo il trapianto, in gran parte per effetto dei farmaci immunosoppressori. La sintesi di albumina tende poi ad incrementare progressivamente [3].

L'incremento dei livelli sierici di calcio può derivare da un maggior riassorbimento tubulare o gastrointestinale di calcio o da un'alterazione della mineralizzazione ossea, tutte condizioni variamente influenzate dai livelli di PTH, di calcitriolo e dal ripristino della funzione renale. Il trapianto renale può ripristinare una normale risposta delle cellule ossee al PTH inducendo un aumentato rilascio di calcio dal tessuto osseo con conseguente ipercalcemia. Nonostante nella popolazione trapiantata vi sia spesso una condizione di carenza di substrato vitaminico D (25-idrossi-vitamina D), con il ripristino della funzione renale, un altro meccanismo che potrebbe contribuire all'ipercalcemia è rappresentato dall'aumentata sintesi dei livelli di 1,25-diidrossi-vitamina D, con conseguente incremento dell'assorbimento intestinale di calcio [9].

Il quadro clinico dell'IPSP è inoltre caratterizzato frequentemente da ipofosforemia, condizione che può perdurare anche per molti anni dopo il trapianto.

Alla sua patogenesi complessa concorrono diversi fattori, e già da alcuni anni si è giunti ad affermare che non dipende solo dall'effetto fosfaturico indotto dall'aumentata secrezione di PTH conseguente alla persistenza dell'iperparatiroidismo [10].

Diversi studi hanno osservato che durante i primi quattro mesi successivi al trapianto, più del 93% dei pazienti sviluppano una moderata ipofosforemia, secondaria ad una aumentata escrezione renale di fosforo, come conseguenza di una ridotta espressione delle proteine di cotrasporto Na/Pi a livello del tubulo prossimale [11].

A volte anche fosforemie nell'ambito della norma possono nascondere un'aumentata fosfaturia che potrebbe riflettere un'aumentata mobilizzazione del fosforo dall'osso per garantirne adeguati livelli ematici [12].

Recentemente il fibroblast growth factor (FGF 23), una fosfatoina sintetizzata dagli osteoblasti e dagli osteociti, viene chiamata in causa per il suo possibile ruolo chiave nella regolazione del metabolismo calcio- fosforico, del trasporto tubulare di fosfato e dei livelli di vitamina D .

E' ampiamente riconosciuto che, con il ripristino dell'equilibrio elettrolitico, i livelli di FGF23 , che risultano aumentati nei pazienti con insufficienza renale cronica, si

riducono rapidamente dopo il trapianto, ma rimangono inappropriatamente elevati e continuano ad esercitare un effetto fosfaturico nel periodo immediatamente successivo al trapianto. Diversi studi in proposito hanno dimostrato l'esistenza di una relazione inversa tra le concentrazioni sieriche di FGF23 e di fosforo [13].

Gli elevati livelli di FGF23 inducono inoltre una ridotta sintesi di calcitriolo, attraverso l'inibizione dell' 1α -idrossilasi e la stimolazione della 24-idrossilasi, che contribuisce alla persistenza dell'iperparatiroidismo che si osserva dopo il trapianto[14].

Evenepoel ha suggerito che questa condizione di inappropriato "iperfosfatoninismo" migliora entro il primo anno dal trapianto [15]. Inoltre, altri fattori possono contribuire al ridotto riassorbimento tubulare e/o intestinale di fosforo nei pazienti trapiantati, e tra questi occorre menzionare l'uso di farmaci glucocorticoidi, diuretici ed immunosoppressori [10].

A tal proposito mancano ad oggi studi che possano dare una risposta certa riguardo la possibilità che il tipo di farmaci immunosoppressori possa anche contribuire nell'indurre ipercalcemia.

COMPLICANZE DELL'IPERPARATIROIDISMO SECONDARIO PERSISTENTE IPERCALCEMICO NEL PAZIENTE TRAPIANTATO

Complicanze renali

Esistono modelli sperimentali su animali nei quali gli elevati livelli calcemici possono indurre alterazioni morfo-funzionali evidenziate come nefrocalcinosi macro e microscopiche, caratterizzate rispettivamente da deposizione di sali di calcio rispettivamente a livello papillare e del lume tubulare renale [3].

Un altro tipo di danno renale potenzialmente indotto da ipercalcemia viene identificato come nefrocalcinosi chimica e risulta essere secondario agli effetti emodinamici e biochimici noti dell'ipercalcemia, senza la presenza di deposizioni macro o microscopiche di calcio [3].

Alcuni autori hanno valutato l'esistenza di un possibile link tra l'ipercalcemia e lo sviluppo di calcificazioni, e come la presenza di tali calcificazioni possa associarsi ad una ridotta sopravvivenza del graft. Gwinner et al. [16] hanno evidenziato, su biopsie seriate a 6 settimane, 3 e 6 mesi dal trapianto, in circa il 18% dei pazienti trapiantati, la presenza di calcificazioni tubulo-interstiziali entro i primi

sei mesi dal trapianto. Le calcificazioni riscontrate sono state localizzate maggiormente nel lume tubulare ed in misura minore a livello corticale e midollare tubulo-interstiziale, e sono state associate frequentemente alla deposizione di fosfato di calcio. In particolare, gli stessi autori hanno evidenziato livelli di calcemia e PTH più elevati nei pazienti con calcificazioni localizzate a livello tubulo-interstiziale, suggerendo una possibile relazione tra la severità del disturbo metabolico e la sede della calcificazione [16].

Non tutti gli autori però sono in accordo nel ritenere l'ipercalcemia la causa principale dello sviluppo di calcificazioni. In uno studio condotto su una popolazione pediatrica di trapiantati renali, Habbig et al., pur confermando l'elevata frequenza di riscontro di calcificazioni tubulari, non erano in grado di evidenziare alcuna relazione tra tali reperti istologici e i livelli di calcemia [17]. E' riconosciuto che l'ipercalcemia possa indurre un danno renale, tuttavia i meccanismi responsabili di tale quadro condizione non sono stati ancora del tutto chiariti.

L'ipercalcemia può indurre insufficienza renale acuta, ipertensione arteriosa oppure aggravare un quadro di necrosi tubulare che si riscontra frequentemente in corso di danno renale acuto. A tal proposito diversi studi hanno evidenziato che all'aumentare dei livelli di calcemia si assiste ad un peggioramento degli indici di funzione renale [18].

La patogenesi della necrosi tubulare acuta (ATN) rimane ancora non ben nota. Le poche correlazioni esistenti tra manifestazioni cliniche e morfologiche riscontrate

biotticamente, non hanno permesso di approfondire le conoscenze riguardo questo argomento. Episodi di ATN in pazienti portatori di trapianto renale possono compromettere in modo importante la funzione del graft. Tuttavia, le condizioni nelle quali si manifesta una ritardata ripresa del graft (delayed graft function- DGF) subito dopo il trapianto, differiscono da quelle nelle quali si sviluppa insufficienza renale acuta nei reni nativi.

Sembra plausibile che la discrepanza tra DGF e ATN nel trapianto sia spiegata non solo da fattori correlati al trapianto stesso, come la tossicità da inibitori della calcineurina, ma anche da elevati livelli sierici di calcio al momento del trapianto.

Il meccanismo attraverso il quale l'ipercalcemia causa danno renale acuto rimane ancora ipotetica. Il calcio rappresenta un cofattore nell'attivazione di enzimi proteolitici che si associano all'integrità tubulare renale [19].

Diversi fattori sono stati descritti giocare un ruolo importante nello sviluppo di danno tubulare causato da deprivazione di ossigeno, come gli alterati meccanismi omeostatici del calcio, specie reattive dell'ossigeno e l'attivazione di enzimi. E' stato dimostrato che l'ipossia riduce il pool cellulare di ATP, e di conseguenza le cellule non sono più in grado di estrudere calcio.

Il ruolo del calcio citoplasmatico come messaggero intracellulare per molte importanti funzioni cellulari, potrebbe spiegare come alte concentrazioni citosoliche

di calcio siano capaci di attivare gli enzimi calcio- dipendenti (fosfolipasi, nucleasi e proteasi) ed indurre alterazioni funzionali nei principali processi metabolici [19].

Indipendentemente da questi effetti, è inoltre importante ricordare che elevate concentrazioni sieriche di calcio, attraverso un effetto di stimolo diretto dei calcium sensing receptor, espressi in vari distretti del tubulo renale, può indurre un eccessivo effetto sodiuretico e acquaretico che, se non adeguatamente compensato dall'apporto idrosalino, potrebbe essere ulteriore causa di un peggioramento della funzione renale [3].

Complicanze cardiovascolari

Nei pazienti con malattia renale cronica (CKD) la prevalenza delle calcificazioni vascolari (aortiche, coronariche) rappresenta un fattore di rischio indipendente per morbilità e mortalità cardiovascolare, e per tutte le cause [20].

Nell'ambito della CKD lo stretto link tra alterazioni metaboliche, turnover osseo e presenza di calcificazioni vascolari viene compreso all'interno della sindrome CKD-MBD (chronic kidney disease - mineral and bone disorders) [20].

La patogenesi della malattia cardiovascolare, con particolare riguardo alle calcificazioni vascolari, risulta complessa e ancora non completamente chiarita.

Il meccanismo patogenetico delle calcificazioni non prevede soltanto la semplice precipitazione dei sali di calcio, ma anche processi attivi che coinvolgono l'attività delle cellule muscolari lisce vascolari (VSMC- vascular smooth muscle cells), modulata da alcune proteine osteogeniche, e l'attività di proteine con funzione inibitoria sui processi di calcificazione ed infiammazione [12].

E' ipotizzabile, quindi, che il trapianto renale, accompagnandosi quasi sempre ad un miglioramento di tutti i meccanismi chiamati in causa nello sviluppo delle calcificazioni, possa indurre una regressione, o almeno una stabilizzazione, dei processi di calcificazione vascolare. In realtà è stato osservato che, dopo il trapianto, la mancata progressione delle calcificazioni coronariche rappresenta un'evenienza molto rara, e i dati ottenuti permettono di affermare che, dopo essersi manifestate, difficilmente le calcificazioni coronariche vanno incontro a regressione [21].

Complicanze ossee

Anche dopo il trapianto, pur correggendo la maggior parte delle alterazioni metaboliche, una larga percentuale di pazienti nefropatici presenta anomalie del metabolismo osseo.

Le modificazioni ossee sono ormai uniformemente osservate, ma l'eziologia e la patologia sono ampiamente variabili. L'osteopatia da trapianto rappresenta una importante complicanza osservata in una consistente popolazione di pazienti.

La sua eziopatogenesi risulta essere multifattoriale e complessa. Molti pazienti giungono al trapianto con una patologia ossea preesistente, dovuta alle alterazioni metaboliche acquisite nel corso della malattia renale cronica ed in dialisi, che spesso non migliora dopo il trapianto [12].

In aggiunta, a danneggiare l'osso concorrono diversi insulti, tra cui il potenziale effetto dannoso della terapia immunosoppressiva, la compromissione della funzione renale, ed altri fattori come lo stato ormonale post- menopausale, la presenza di diabete, l'età ed il fumo [22].

Glucorticoidi. La patogenesi dell'osteopatia indotta da terapia steroidea è multifattoriale ed è stata ampiamente rivisitata.

Il meccanismo diretto attraverso cui i glucocorticoidi inducono effetti negativi sull'osso è rappresentato dalla inibizione del processo di formazione ossea. Sono infatti in grado di inibire la differenziazione osteoblastica e indurre l'apoptosi degli osteoblasti e degli osteociti con conseguente riduzione del turnover e della sintesi ossea [7]. Stimolano inoltre l'osteoclastogenesi attraverso un aumento dei livelli del RANK e una riduzione del recettore di RANKL, l'osteoprotegerina.

Ed ancora riducono l'assorbimento intestinale di calcio, inducendo un bilancio del calcio negativo, ed in più sopprimono direttamente le gonadotropine causando ipogonadismo ipogonadotropo, contribuendo in tal modo alla perdita ossea [23].

Studi prospettici hanno dimostrato una rapida perdita ossea durante i primi sei mesi dal trapianto, con prevalente interessamento della componente trabecolare dell'osso[7].

Inibitori della calcineurina. Studi su animali in vivo hanno dimostrato che il trattamento con ciclosporina induce aumento del turnover e perdita ossea. Inoltre sembra essere importante l'interazione tra il turnover osseo e il sistema immunitario, e l'effetto della ciclosporina sembra esser dipendente dalla presenza dei linfociti T [7]. E' stato suggerito che la ciclosporina incrementi il turnover osseo attraverso l'inibizione della produzione di citochine antiriassorbitive indotta dai linfociti T [7].

Il trattamento con tacrolimus sembra associarsi a severa perdita di massa ossea e alterato turnover. Alcuni studi mostrano che il tacrolimus riduce la BMD femorale nei ratti normali, sebbene la riduzione sia meno severa di quella indotta dalla ciclosporina [24].

Sebbene alcuni studi dimostrino un link tra trattamento con inibitori della calcineurina e osteoporosi, non vi sono correlazioni tra uso di questi farmaci e comparsa di fratture [25].

Inibitori m-Tor. Non ci sono studi sull'uomo che evidenzino effetti sull'osso indotti dall'uso di sirolimus o everolimus.

Il sirolimus aumenta la sintesi di osteoprotegerina e inibisce la maturazione osteoclastica, inoltre l'inibizione di mTOR aumenta l'apoptosi degli osteoclasti.

L'everolimus induce nei ratti perdita ossea attraverso ridotto riassorbimento osteoclastico [26].

Sulla base di tali considerazioni, il paziente portatore di trapianto renale presenta dunque diversi fattori di rischio di osteodistrofia renale (ODR), che indica qualunque tipo di patologia ossea, nei pazienti nefropatici, che rientra nella sindrome definita "chronic kidney disease- mineral bone disorders" o CKD-MBD.

Questa sindrome è stata proposta per sottolineare il link esistente tra le lesioni ossee e metaboliche dell'uremia e l'aumentata morbilità e mortalità nei pazienti con patologie renali, inclusi i trapiantati.

In questa sindrome, i classici quattro diversi tipi di osteodistrofia- iperparatiroidismo o osteite fibrosa, osteomalacia, osso adinamico e quadro misto- sono catalogati differentemente qualora si decidesse di utilizzare la nuova classificazione basata sui tre parametri considerati dal punto di vista funzionale, i più rilevanti, e cioè mineralizzazione, turnover e volume osseo [22].

Le alterazioni più precoci che interessano il rimodellamento osseo dopo il trapianto sono rappresentate da una ridotta formazione e mineralizzazione ossea come

conseguenza di una alterata funzione osteoblastica, ridotta osteoblastogenesi, incrementata apoptosi degli osteoblasti, tutte condizioni che portano ad una perdita di massa ossea [7].

Tuttavia i pochi dati disponibili sul trapianto dimostrano che la condizione di osso adinamico, caratterizzata da ridotto numero di osteoblasti e osteoclasti, e ridotto turnover osseo, risulta il quadro più comunemente riscontrato (5-50%); il quadro misto, caratterizzato da basso ed elevato turnover con difetto di mineralizzazione, rappresenta circa il 12% della patologia ossea post trapianto [12].

L'osteomalacia, caratterizzata da un alterato processo di mineralizzazione, aumentato volume osteoide e bassa attività osteoclastica e osteoblastica, rappresenta invece la condizione meno comune in corso di trapianto renale [20].

Naturalmente gravità e tipo di lesione istologica sono molto influenzate dal grado di malattia sviluppata prima del trapianto, e che non va incontro a risoluzione dopo lo stesso. Alterazioni bioumorali a parte, vari studi nel paziente trapiantato evidenziano una elevata incidenza di fratture oltre che di manifestazioni dolorose osteoarticolari diffuse [7, 12, 20].

Complicanze ematologiche

Dopo il trapianto renale è frequente il riscontro di un incremento del numero di globuli rossi e dei livelli di emoglobina fino ad una condizione di franca eritrocitosi. Questa complicanza, stimata tra il 10 e il 20% dei pazienti portatori di trapianto renale, presenta una patogenesi ancora non del tutto chiarita [3].

Diversamente da quanto supportato da studi datati, che invocavano come fattore causale l'effetto della recuperata sintesi di eritropoietina, studi più recenti [27] hanno evidenziato la presenza di altri fattori che possono spiegare le alterazioni ematologiche in corso di trapianto. In seguito all'osservazione che i farmaci ACE inibitori e sartani siano in grado di correggere l'eritrocitosi post trapianto, evidenze più recenti suggeriscono che il calcio possa giocare un ruolo importante nel processo di eritropoiesi, e più specificatamente, nella stimolazione dell'eritropoiesi indotta dall'angiotensina I. Studi in vitro hanno proposto che le concentrazioni intracellulari di calcio ionizzato sono importanti determinanti della proliferazione e differenziazione eritroide [27].

Alcuni autori hanno segnalato che l'eritrocitosi dopo trapianto è riscontrata con maggiore frequenza in pazienti con elevati livelli di calcemia [28].

Mancano comunque, ad oggi, studi che chiariscano i meccanismi attraverso i quali l'ipercalcemia induca un'aumentata proliferazione eritroide [28].

STRATEGIE TERAPEUTICHE

Paratiroidectomia

Ad oggi non vi sono chiare evidenze riguardo al trattamento dell'IPSP ipercalcemico. In media, lo 0,5- 5% dei pazienti affetti da tale condizione clinica richiede un intervento di paratiroidectomia [20].

Sebbene non vi siano precise indicazioni sul timing di intervento, le principali condizioni che permettono di porre indicazione al trattamento chirurgico includono: la persistenza dell'ipercalcemia e gli elevati livelli di PTH nel lungo termine, la presenza di malattia ossea sintomatica, la presenza di calcificazioni vascolari, calcifilassi o la comparsa di fratture spontanee [8, 20].

E' importante ricordare che l'ipercalcemia e gli elevati livelli di PTH sono comunemente riscontrati entro il primo anno dal trapianto, pertanto qualsiasi decisione riguardante il trattamento di tali alterazioni metaboliche, dovrebbe essere valutata di seguito. L'obiettivo principale del trattamento chirurgico dell'IPSP è quello di ridurre l'iperplasia nodulare paratiroidea, portando di seguito alla normalizzazione dei livelli di calcemia [29].

La scelta del tipo di metodica chirurgica (paratiroidectomia subtotale o totale, con o senza autotrapianto) deve essere attentamente valutata in ogni singolo caso. Non ci sono molti studi di follow-up al riguardo capaci di dare indicazioni su quale sia il trattamento chirurgico associato ad una minore comparsa di complicanze [30]. Alcuni autori, a tal proposito, hanno riportato che i pazienti trapiantati renali sottoposti a paratiroidectomia totale, rispetto a quelli trattati con intervento subtotale, presentano un rischio maggiore di sviluppare ipocalcemia e ipoparatiroidismo [31].

La scelta della terapia chirurgica è gravata dalla possibile insorgenza di un peggioramento della funzione renale. E' dimostrato che le variazioni delle concentrazioni di PTH rappresentino un fattore determinante del peggioramento della funzione renale; infatti una riduzione dei livelli di PTH maggiore dell'80% sembra si associ ad un significativo decremento della clearance della creatinina [32]. Evidenze tratte da studi sperimentali suggeriscono che il paratormone possiede la capacità di influenzare la perfusione renale e la filtrazione glomerulare, e di regolare la funzione cellulare mesangiale [33]. L'infusione di PTH nei ratti e negli umani ha un effetto stimolatorio sul flusso plasmatico renale e sulla filtrazione glomerulare, probabilmente attraverso un effetto vasodilatatorio sul sistema vascolare renale. Misurando infatti la clearance dell'inulina e del PAI prima e dopo la paratiroidectomia, si osserva una effettiva riduzione del flusso plasmatico renale e della filtrazione glomerulare dopo la correzione chirurgica [32].

L'effetto emodinamico indotto dalla rapida riduzione dei livelli di PTH attraverso una vasodilatazione dell'arteriola efferente ed una vasocostrizione dell'arteriola afferente a livello glomerulare come effetto dell'angiotensina II, induce uno stato di iperfiltrazione e conseguentemente può portare ad un progressivo deterioramento della funzione renale nei pazienti portatori di trapianto renale [34].

Oltre alla normalizzazione metabolica, si può anche assistere, dopo la paratiroidectomia, anche ad altre importanti manifestazioni cliniche come il significativo decremento dei valori pressori.

In proposito esistono pareri controversi. Alcuni autori hanno suggerito che la riduzione dei livelli di pressione arteriosa dopo l'intervento di paratiroidectomia è legata con molte probabilità alla normalizzazione dei livelli sierici di calcio e/o di PTH. Il meccanismo attraverso il quale le variazioni delle concentrazioni di calcio e PTH influiscono sulla pressione arteriosa sono complessi e non ancora del tutto chiari. In presenza di PTH, una maggiore quantità di calcio giunge all'interno delle cellule muscolari lisce, e questo evento incrementa la risposta ipertensiva in relazione alle elevate concentrazioni di calcio. L'ipercalcemia può indurre ipertensione attraverso un incremento dell'output cardiaco o delle resistenze vascolari periferiche, oppure attraverso un aumentato rilascio di sostanze vasoattive (come catecolamine, renina...) [35].

Inoltre un altro bersaglio del PTH è rappresentato dall'endotelio. I pazienti trapiantati renali presentano una disfunzione endoteliale correlata ai livelli di questo

ormone che, quando elevati, hanno un effetto dannoso sulla capacità elastica della parete vasale arteriosa [36].

Calciomimetici

E' ormai noto come l'incremento dei livelli sierici di PTH e di calcio siano responsabili di una serie di conseguenze cliniche, come precedentemente descritto, che nel lungo termine si associano ad un aumentato rischio di morbilità e di mortalità cardiovascolare. Da ciò si evince che l'individuazione dei livelli ottimali di calcio, fosforo e PTH sia da considerare la base per scelte terapeutiche appropriate.

Pertanto, nella pratica clinica, per il trattamento dell'IPSP ipercalcemico si ricorre all'uso dei calciomimetici (già utilizzati per il controllo dell'IPS nei pazienti in dialisi e dell'iperparatiroidismo primitivo ipercalcemico non trattabile chirurgicamente) allo scopo di ridurre i livelli di PTH e di calcemia [37].

I calciomimetici sono farmaci capaci di attivare il recettore sensibile al calcio, il Calcium Sensing Receptor (CaSR) [38].

Questo recettore è una proteina appartenente alla superfamiglia dei recettori associati alle proteine G ed è espresso a livello di numerosi organi ed apparati, ma in particolare nelle cellule paratiroidi ed in quelle tubulari renali.

L'interazione di un agonista con la regione N-terminale extracellulare, determina modificazioni steriche della molecola a livello delle regioni intracitoplasmatiche che comportano eventi fosforilativi con stimolazione della fosfolipasi C ed inibizione dell' adenil-ciclastasi. Questi meccanismi biochimici esitano nell'attivazione di numerosi segnali intracellulari a cui seguono eventi biologici differenziati nelle varie cellule dei tessuti dove è espresso il CaSR [39].

Tra i vari sistemi cellulari, uno meglio studiato è quello delle cellule paratiroidi dove gli effetti della stimolazione del CaSR sono stati sicuramente definiti con maggiore precisione. Il principale effetto è rappresentato dall'aumento del calcio intracellulare, conseguente all'attivazione della fosfolipasi C (PLC) che produce una riduzione della secrezione di PTH preformato, contenuto nei granuli secretivi. Una stimolazione prolungata nel tempo del CaSR è in grado di indurre una ridotta trascrizione dell'm-RNA del PTH e nell'arco di giorni o settimane una riduzione degli eventi proliferativi cellulari [40].

Nel rene, dove il recettore è espresso in quasi tutti i distretti, l'attivazione del CaSR contribuisce ad influenzare non solo il trasporto del calcio, ma anche quello del sodio e dell'acqua, riducendoli entrambi [40].

Nell'uomo sono note oltre cento mutazioni nel gene che codifica per il CaSR. Alcune di queste mutazioni sono associate a guadagno, altre a perdita di funzione. E' interessante notare che in tutte le patologie legate a tali mutazioni, le caratteristiche cliniche riguardano quasi esclusivamente modificazioni metaboliche

del metabolismo calcio- fosforico e dei livelli di PTH, nonostante la presenza del CaSR in numerosi sistemi cellulari [41].

Il primo, e per ora, unico calciomimetico impiegato nella pratica clinica è il Cinacalcet-HCl. Questo composto, sperimentato in studi pre-clinici con il nome di AMG 073, è ormai entrato nell'uso clinico con buoni risultati.

L'AMG 073 è un R-enantiomero in forma di sale HCl, dal peso molare di 393,9 g, modicamente solubile in acqua e prevalentemente solubile in soluzione alcolica.

Dopo somministrazione orale, la biodisponibilità del farmaco è di oltre il 74% e si distribuisce rapidamente nella maggior parte dei tessuti.

Il farmaco, quasi totalmente legato alle proteine circolanti (oltre il 90%), viene sottoposto a metabolismo ossidativo e a coniugazione con acido glucuronico e quindi escreto sia per via biliare (20-40%) che per via urinaria (circa il 50%). Nell'uomo, la clearance microsomiale del farmaco è associata all'attività del CYP1A2 e CYP3A4 [42].

I calciomimetici si sono dimostrati nelle esperienze pre-cliniche efficaci nel ridurre i livelli di PTH, prevenendo lo sviluppo dell'iperplasia ghiandolare paratiroidea e riducendo l'espressione dei CaSR sulla superficie cellulare in un modello sperimentale di ratto uremico [43].

Questi farmaci sono capaci di indurre una rapida riduzione dei livelli di PTH già dopo circa 120 minuti dalla somministrazione per via orale, raggiungendo il valore

minimo tra la quarta e la sesta ora. L'intensità dell'effetto di riduzione sulla secrezione è dipendente entro certi limiti dalla dose somministrata. Questo effetto è in parte legato alla ridotta dismissione delle molecole di PTH già sintetizzate e contenute nei granuli secretivi delle cellule paratiroidee, ed in parte ad una ridotta sintesi secondaria a diminuita trascrizione dell'mRNA [41].

Diversi studi su popolazioni di pazienti portatori di trapianto renale hanno confermato l'efficacia del Cinacalcet nel ridurre i livelli ematici di PTH e di calcio in presenza di IPSP ipercalcemico [44].

Sono stati dimostrati effetti positivi indotti dalla terapia con calciomimetici fino ad oltre sei mesi, con riduzione dei livelli calcemici e normalizzazione della fosforemia in più del 90% dei pazienti trapiantati. Alla sospensione della terapia veniva osservata una ripresa della secrezione paratiroidea, indicando la necessità di una terapia prolungata per il controllo dell'ipercalcemia [45].

In modelli sperimentali su ratti resi uremici, alcuni autori hanno mostrato, dopo somministrazione di dosi giornaliere di un prototipo di Cinacalcet, un incremento del BMD a livello osseo corticale [46]. Bergua et al hanno poi evidenziato in uno studio osservazionale, come l'uso del Cinacalcet nei pazienti con IPSP ipercalcemico possa correggere i livelli di calcemia e contemporaneamente migliorare la densità minerale ossea in questi pazienti [47].

Serra et al hanno mostrato un incremento dei livelli di fosfatasi alcalina e dell'isoenzima osseo durante il trattamento con calciomimetico. Una possibile spiegazione di questo effetto potrebbe essere il fatto che oscillazioni nelle concentrazioni di PTH potrebbero avere un effetto stimolatorio sul turnover osseo, inducendo un incremento della densità minerale ossea e riducendo quindi il rischio di fratture. Gli stessi autori hanno poi sottolineato che il trattamento con cinacalcet potrebbe indurre una riduzione del filtrato glomerulare renale. Tale evento sembra essere secondario all'effetto emodinamico indotto dalla riduzione dei livelli di PTH, come descritto dopo l'intervento di paratiroidectomia [46].

L'assunzione di Cinacalcet può inoltre presentare diversi effetti collaterali, e tra questi circa il 30% sono rappresentati dall'ipocalcemia e dai disturbi gastrointestinali.

L'ipocalcemia può essere spiegata in diversi modi. Il primo fattore potrebbe essere rappresentato dalla rapida riduzione dei livelli di PTH che può indurre una riduzione dei flussi di calcio in uscita e/o un incremento dei flussi in entrata nell'osso (in modo simile a quanto avviene dopo paratiroidectomia).

Un secondo fattore potrebbe invece essere l'effetto diretto del farmaco sul CaSR o su altri recettori associati a proteine G, espressi a livello osseo che, se stimolati, potrebbero indurre modificazioni del flusso del calcio verso l'osso [41].

I disturbi gastrointestinali si riscontrano frequentemente, con una incidenza di nausea e vomito di circa il 30-40%.

Questi effetti collaterali potrebbero in parte essere spiegati con la possibile stimolazione del CaSR sulla secrezione di HCl. L'aumento della secrezione acida potrebbe essere sostenuta da una stimolazione diretta della pompa protonica e da un'aumentata secrezione di gastrina da parte delle cellule antrali, con conseguente stimolazione dei recettori istaminergici [48].

Qualunque sia la causa, questi effetti sull'apparato gastrointestinale inducono alla sospensione del trattamento solo in un numero limitato di casi [41].

Un altro importante effetto secondario alla somministrazione del Cinacalcet è rappresentato dall'incrementata escrezione urinaria di calcio. In effetti, le osservazioni già disponibili sull'uso di questo farmaco nei pazienti trapiantati, documentano una riduzione dei livelli di PTH e di calcemia, ma con aumento della calciuria [49].

Il CaSR gioca un ruolo importante nella regolazione del calcio, attraverso meccanismi diretti o mediati dall'azione del PTH. Più del 90% del riassorbimento del calcio avviene a livello del tubulo prossimale e del tratto ascendente dell'ansa di Henle, soprattutto attraverso il pathway paracellulare. Questo riassorbimento di calcio avviene mediante un gradiente transepiteliale generato dal cotrasportatore apicale Na-K-2Cl nella porzione ascendente dell'ansa di Henle. Questo gradiente è

influenzato dal CaSR. Il passaggio del calcio avviene attraverso i canali epiteliali del calcio TRPV5, la cui attività è influenzata dalle concentrazioni di PTH [50].

La somministrazione di calciomimetico, riducendo i livelli di PTH, induce una ridotta attività dei TRPV5, e quindi riduce il trasporto di calcio. In questo modo il riassorbimento di calcio si riduce e di contro ne aumenta l'escrezione, facilitando la possibile comparsa di nefrolitiasi, come descritto in pazienti trapiantati già con la sola assunzione di 30 mg di farmaco nell'immediato post-trapianto [49].

Un aspetto di particolare interesse che è emerso dall'uso del Cinacalcet è la notevole variabilità di risposta che si osserva nei differenti pazienti, con alcuni in cui la risposta inibitoria sui livelli di PTH si osserva in tempi molto brevi (7-10 gg) e con basse dosi di farmaco e altri che non mostrano risposta neppure con dosi massimali di calciomimetico. Tali differenze sembrano dovute, oltre che ad una mancata risposta per la ridotta espressione dei CaSR, ad una variabilità della farmacocinetica e della farmacodinamica del Cinacalcet.

Un'altra possibilità potrebbe essere legata alla presenza di varianti polimorfiche di CaSR, alcune delle quali potrebbero definire genotipi del recettore più o meno sensibili all'effetto degli agonisti o degli induttori allosterici [51].

Un altro potenziale problema dovuto all'uso del Cinacalcet nei pazienti trapiantati è legato alla possibile interferenza con la farmacocinetica di alcuni farmaci immunosoppressori. Entrambi gli inibitori della calcineurina, la ciclosporina

ed il tacrolimus, impiegati ampiamente come terapia antirigetto, subiscono un metabolismo intestinale ed epatico, principalmente attraverso il CYP3A.

Anche il Cinacalcet subisce un metabolismo epatico proprio tramite il CYP3A, pertanto non potrebbe essere esclusa la possibile interazione farmacocinetica con la contemporanea assunzione di questi farmaci.

E' stato dimostrato da alcuni autori che la contemporanea somministrazione di tacrolimus e calciomimetico si associa ad un moderato, ma significativo, decremento nei livelli di tacrolemia, già dopo una settimana di trattamento, mentre non determina differenze nei livelli ematici di ciclosporina o micofenolato [52].

Sebbene gli stessi autori non abbiano segnalato effetti del Cinacalcet sulla farmacocinetica della ciclosporina, i livelli di uno dei suoi metaboliti, potenzialmente nefrotossico, l'AM19, risultavano aumentati. Ad oggi non vi sono dati in letteratura che supportino l'effetto del calciomimetico su AM19, ma è probabile che il Cinacalcet alteri la clearance di tale metabolita, riducendone sia il metabolismo, che l'escrezione renale, contribuendo in tal modo al possibile peggioramento della funzione renale [52].

Vitamina D e VDRa (Vitamin D receptor activators)

Fino ad oggi le terapie mediche disponibili per il trattamento dell'iperparatiroidismo secondario, con l'uso dei metaboliti attivi della vitamina D, hanno permesso, attraverso l'azione diretta sui VDR, il controllo della crescita paratiroidea e l'inibizione della secrezione ghiandolare. L'attivazione dei VDR risulta in effetti essenziale per il controllo della sintesi del PTH e della proliferazione delle cellule paratiroidee [53].

Vitamin D Receptor. La maggior parte delle attività della vitamina D richiedono la presenza di un recettore ad alta affinità, il Vitamin D Receptor (VDR), membro della superfamiglia dei recettori nucleari degli ormoni steroidei, come questi il VDR agisce come fattore di trascrizione attivato da ligando [54].

In seguito al legame della vitamina D, il VDR forma un eterodimero con il retinoid-X receptor e lega elementi responsivi all'ormone a livello del DNA (Vitamin D response elements- VDREs). Il dominio di legame del ligando, localizzato nella porzione COOH-terminale della molecola del VDR, è responsabile del legame ad alta affinità dell' $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; il $25(\text{OH})\text{D}_3$ e il $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ possono legare lo stesso recettore con una avidità 100 volte minore. Il legame del calcitriolo al VDR e successivamente ai VDREs può sia indurre che inibire la trascrizione di determinati

geni in base al dominio di legame del complesso VDR/RXR-VDREs e all'intervento di molecole co-regolatrici.

I metaboliti della vitamina D, come altri ormoni steroidei esercitano alcune azioni che avvengono troppo rapidamente per poter essere spiegate con variazioni dell'espressione genica, sembrano infatti essere mediate da recettori di superficie, queste sono definite azioni rapide non genomiche.

Il grado di risposta del VDR è influenzato dall'accessibilità del ligando al VDR, dal contenuto cellulare di VDR, da modificazioni genetiche e post-translazionali del VDR e dalla disponibilità e dallo stato di attivazione di co-regolatori nucleari [55].

Il sistema endocrino della vitamina D è un componente essenziale delle interazioni fra rene, osso, paratiroidi e intestino i quali mantengono i livelli extracellulari di calcio entro dei limiti precisi. In particolare, il sistema della vitamina D è un potente modulatore dell'attività paratiroidea.

Calcitriolo

Il calcitriolo, l' $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, è la forma attiva della vitamina D più frequentemente utilizzata per il trattamento dell'iperparatiroidismo secondario.

Oltre alla repressione diretta del gene del PTH da parte del complesso 1,25(OH)₂D₃-VDR, il calcitriolo regola sia i livelli di VDR nelle cellule paratiroidee che la risposta delle cellule paratiroidee al calcio. La modulazione della risposta al calcio dipende da una induzione della trascrizione del gene del CaSR da parte del complesso 1,25(OH)₂D₃-VDR per la presenza di due VDREs presenti nel promotore [5, 20].

La scoperta del calcitriolo ha aperto una nuova era nel trattamento dell'IPS a causa della sua selettiva e potente capacità di legame ai VDR rispetto al suo precursore, la 25-idrossi-vitamina D. In studi sperimentali è stato dimostrato come il calcitriolo sia in grado di controllare la proliferazione delle cellule paratiroidee attraverso l'inibizione di specifici fattori di crescita, quali il Transforming Growth Factor alfa e, il suo recettore, l'Epidermal Growth Factor Receptor, o attraverso la stimolazione di proteine che controllano il ciclo cellulare, come la p21 [53].

Un altro effetto positivo della somministrazione di vitamina D è l'up-regulation della sintesi dei CaSR sulla superficie delle cellule paratiroidee, una condizione che facilita la soppressione della secrezione di PTH da parte del calcio. Questo rende le cellule paratiroidee maggiormente sensibili alle concentrazioni del calcio extracellulare [56]. Inoltre, è stato ipotizzato come l'attivazione selettiva dei VDR possa ridurre direttamente le calcificazioni cardiovascolari attraverso l'inibizione della produzione di proteine che promuovono tale processo o attraverso lo stimolo sull'espressione di proteine che inibiscono le calcificazioni vascolari. Se si

considera che i VDR sono localizzati a livello della tunica media delle cellule muscolari lisce e che la somministrazione di calcitriolo alle cellule osteoblastiche è in grado di ridurre la sintesi del collagene tipo I, è facile comprendere come questo processo sarebbe inoltre capace di inibire la deposizione di calcio nella matrice extracellulare [53].

Per sottolineare la possibilità di effetti sistemici dell'attivazione dei VDR, sono stati dimostrati, in studi su animali, diversi effetti benefici indotti dal trattamento del calcitriolo, come la proprietà antiproliferativa a livello glomerulare e tubulo-interstiziale, o gli effetti protettivi sulle funzioni dei podociti [57].

Nella pratica clinica, il calcitriolo ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), rappresenta il metabolita attivo della vitamina D maggiormente impiegato nei pazienti con malattia renale cronica, negli stadi 3 e 4, dove i livelli plasmatici di 1,25diidrossi-vitamina D sono ridotti. Il calcitriolo, somministrato sia per via orale che endovenosa, è stato inoltre largamente impiegato nei pazienti in emodialisi al fine di controllarne i livelli ematici di PTH e conseguentemente prevenire l'osteodistrofia renale [57].

Tuttavia, la possibilità di utilizzare la terapia con calcitriolo nei pazienti trapiantati con IPSP, pur essendo in grado di sopprimere i livelli di PTH, è limitata dall'effetto sui livelli di calcemia, poiché induce, o esacerba, l'ipercalcemia, rendendo problematico l'uso di tale metabolita [5,20].

Paricalcitol

L'introduzione nell'uso clinico di nuovi analoghi della vitamina D ha suscitato notevole interesse per aver aperto la strada verso un nuovo trattamento dell'IPS a causa di un numero ridotto di eventi di ipercalcemia.

In particolare, il 19- nor-1,25-diidrossi-vitamina D₂, il paricalcitol (PCT), un analogo sintetico dell'ergocalciferolo (vitamina D₂) privato del gruppo metilico in posizione 19, già in uso nei pazienti con CKD ed in trattamento sostitutivo, grazie all'azione selettiva sui VDR a livello paratiroideo, potrebbe rappresentare un composto ideale nel controllo effettivo dell'IPSP [58].

Alcuni autori hanno dimostrato come la somministrazione di paricalcitol, rispetto al calcitriolo, si associ ad una riduzione di circa il 30% del PTH nei pazienti in emodialisi o in dialisi peritoneale, con effetti minimi sulla calcemia e sulla fosforemia, già dopo 3 settimane di terapia per os [59].

I diversi meccanismi d'azione dei vari tipi di vitamin D receptor activators (VDRa) non sono ancora del tutto noti, ma potrebbero essere coinvolti anche diversi effetti sull'assorbimento intestinale di calcio. Studi sperimentali su ratti hanno infatti mostrato come il paricalcitol si associ ad un minore effetto sull'assorbimento intestinale di calcio mediato dai canali epiteliali e dai calcium transporter 1 (Cat1) a livello della membrana luminale, e da proteine leganti il calcio (come la calbindina)

a livello del citosol [60]. Evidenze cliniche in pazienti in emodialisi suggeriscono che il paricalcitol stimoli in misura minore l'assorbimento di calcio rispetto al calcitriolo, probabilmente attraverso la ridotta espressione dei geni vitamina D dipendenti [61]. A tal proposito una recente metanalisi conferma proprio l'efficacia del paricalcitol nella riduzione significativa dei livelli di PTH nei pazienti con CKD, senza manifestazioni di ipercalcemia ed eventi avversi [62].

Sembrerebbe poi da studi condotti su animali che vi sia un miglioramento del quadro istomorfometrico e dei markers di turnover osseo dopo terapia con questo analogo, proprio per sottolineare un effetto benefico sulle lesioni ossee [63].

E' importante sottolineare che l'uso di VDRa può sopprimere il sistema renina-angiotensina nel rene ed in altri organi, con conseguente effetto nefroprotettivo.

Il paricalcitol può indurre a livello renale la soppressione del gene renina-angiotensina, ed esercitare un effetto positivo sulla riduzione della glomerulosclerosi, della proteinuria e della nefropatia diabetica, limitando in questo modo la progressione del danno renale. Proprio attraverso tale meccanismo, il trattamento con vitamina D può associarsi ad una riduzione reversibile della funzione renale, che si manifesta con l'incremento dei livelli sierici di creatinina e la riduzione del filtrato glomerulare renale (come descritto con l'uso di ace-inibitori), oppure ad una incrementata sintesi di creatinina [64]. Il paracalcitolo è un farmaco ben tollerato; i più comuni effetti avversi sono la comparsa di ipercalcemia in genere

di grado moderato, disturbi gastro-intestinale e disturbi cutanei soprattutto prurito. Non sono state evidenziate interazioni con farmaci immuno-soppressori.

Secondo quanto detto, sarebbe ipotizzabile che l'uso del paricalcitol, per il suo potente effetto soppressivo sulle paratiroidi, anche a livello genomico, e minore sui livelli di calcemia, oltre che per gli effetti pleiotropici, potrebbe rappresentare la terapia più vantaggiosa per il trattamento dell'IPSP ipercalcemico post- trapianto, con una drastica riduzione del rischio di ipercalcemia in questi pazienti.

STUDIO SPERIMENTALE

Scopo del lavoro

L' IPSP ipercalcemico è una condizione clinica riscontrata in alcuni pazienti portatori di trapianto renale che, a causa delle alterazioni metaboliche, comporta nel tempo un effetto negativo sulla funzione renale, e si associa ad una serie di complicanze, cardiovascolari ed ossee, tali da influire in modo importante anche sulla sopravvivenza.

Pertanto il trattamento dell'IPSP post-trapianto si rende necessario e deve tendere, attraverso una riduzione dell'iperplasia ghiandolare paratiroidea, a ripristinare un normale quadro metabolico.

Fino a poco tempo fa l'unica terapia medica era rappresentata dal metabolita attivo della vitamina D. Il suo uso è in grado di agire, con diversi meccanismi, influenzando la secrezione, ma anche la crescita e l'apoptosi delle cellule paratiroidi. Tuttavia, nel caso di iperparatiroidismo complicato dall'ipercalcemia, tale metabolita, seppure efficace nella riduzione o normalizzazione del PTH, può essere causa di peggioramento dell'ipercalcemia e causare ipercalcemia.

Fino ad ora quindi l'intervento di paratiroidectomia è risultata l'unica scelta terapeutica nei casi di IPSP ipercalcemico pur comportando a volte complicanze in termini di equilibrio metabolico e riduzione della funzione renale.

Più di recente, l'esperienza positiva in dialisi della terapia medica dell'iperparatiroidismo con calciomimetici ha aperto una nuova prospettiva per il loro uso anche nel trapianto renale.

I risultati fino ad ora ottenuti sull'uso dei calciomimetici nell'IPSP ipercalcemico del trapianto hanno mostrato l'efficacia della terapia. Tuttavia la possibilità di eventi avversi, quali la possibile riduzione della funzione renale, l'aumento della calciuria e la potenziale interferenza con i farmaci immunosoppressori, ne ha talvolta ridotto l'utilizzo.

In questo contesto è ipotizzabile che la recente introduzione di analoghi della vitamina D, come il paricalcitol, grazie all'azione selettiva sui recettori paratiroidi, e pertanto con minore effetto sulla calcemia e sulla calciuria,

possa aprire la possibilità di nuove strategie terapeutiche ed essere vantaggioso per il trattamento dell'iperparatiroidismo persistente ipercalcemico post trapianto.

L'obiettivo dello studio è quindi di confrontare l'efficacia e la tolleranza terapeutica tra Calcimimetico e Paricalcitol nella gestione del quadro clinico dell'Iperparatiroidismo Secondario Persistente post trapianto Ipercalcemico in termini di controllo metabolico, biochimico ed osseo. Valutare l'utilità dell'associazione dei due farmaci in termini di maggiore efficacia e minimizzazione degli effetti collaterali.

Disegno dello studio

Studio pilota, prospettico, randomizzato, aperto, monocentrico **[Figure 1-2]**. La durata totale dello studio è di 32 settimane e comprende una fase di screening seguita dalla fase di trattamento. La fase di screening, della durata di 4 settimane, prevede la valutazione del paziente e quindi la sua eleggibilità allo studio secondo i criteri di inclusione. Il successivo periodo di trattamento è distinto in tre fasi:

I Fase (Lead-in) - di 4 settimane, comune a tutti i pazienti, di terapia con Cinacalcet per ridurre gli elevati livelli di calcemia. Valori di Calcemia <10,2 mg/dl sono indicati come limite per il passaggio alla fase successiva dello studio.

II Fase (Randomizzazione)- di 12 settimane in cui i pazienti saranno randomizzati con un rapporto 1:1 ai due bracci di terapia con Cinacalcet (Gruppo A) o con Paricalcitololo (Gruppo B).

Nel Gruppo A con Cinacalcet la dose sarà la stessa della fine della fase di Lead-in raggiunta in base ai livelli di calcemia. Nel Gruppo B con Paricalcitololo la dose iniziale sarà di 1 µg per soggetti con valori di PTH inferiori a 500 pg/ml e 2 µg per valori di PTH superiori a 500 pg/ml. (I soggetti sospenderanno il Cinacalcet dopo la fase di Lead-in). Il numero minimo per la valutazione statistica è di otto pazienti per ciascun braccio di randomizzazione.

III Fase (Terapia combinata)- Al termine dello studio randomizzato tutti i pazienti sospenderanno la terapia in atto e, dopo un periodo di wash-out minimo di un mese, inizieranno una terapia combinata con Paricalcitololo e Cinacalcet per 12 settimane. Le dosi iniziali saranno di 1 mcg a giorni alterni per il Paricalcitololo e di 30 mg/die per il Cinacalcet. I dosaggi dei due farmaci verranno modificati in base ai valori di calcemia.

Pazienti e metodi

Lo studio prevede l'arruolamento di pazienti portatori di Trapianto renale ed affetti da Iperparatiroidismo secondario persistente post trapianto Ipercalcemico. I pazienti arruolati devono rispondere ai seguenti criteri di inclusione: età ≥ 18 anni e ≤ 70 anni; filtrato glomerulare renale calcolato (eGFR) con la formula semplificata MDRD >15 mL/min/1.73m² [65]; mesi trascorsi dal trapianto > 6 ; iperparatiroidismo secondario persistente dopo il trapianto renale con livelli sierici di PTH più alti del range indicato dalle linee guida KDOQI [66] per la funzione renale individuale; livelli sierici di calcio $>10,5$ mg/dl e <12 mg/dl.

Criteri di esclusione sono: la partecipazione ad altri studi nei precedenti 30 giorni; comorbidità come neoplasie, malattie acute intercorrenti, rigetto acuto, aspettativa di vita < 1 anno; gravidanza e allattamento; soggetti in terapia con alte dosi di steroidi; uso di Cinacalcet, Paricalcitol, bifosfonati e qualunque forma di vitamina D (attiva/inattiva) negli ultimi due mesi; soggetti che assumono più di 2,0 g/die di calcio per via orale; intolleranza ai farmaci in studio. La partecipazione allo studio è ammessa solo previo consenso informato del paziente.

Tutti i pazienti arruolati erano sottoposti a prelievo ematico per la determinazione della Creatinemia (Cr), Calcemia (Ca), Fosforemia (P), Paratormone Intatto (PTH), Fosfatasi Alcalina Ossea (BALP), 25-idrossi vitamina D, 1,25-diidrossi vitamina D, FGF23, albuminemia, dosaggio della concentrazione

sierica dei farmaci immunosoppressori. La raccolta urine delle 24 ore era utilizzata per la determinazione di Calciuria e Proteinuria. I campionamenti di sangue e urine erano eseguiti con cadenza mensile. La valutazione dei livelli sierici di FGF23 era limitata alle prime due fasi dello studio. Il dosaggio della terapia con Cinacalcet e Paricalcitol era modulato nel corso dello studio sulla base dei valori di calcemia al fine di mantenerli a livelli inferiori a 10,5 mg/dl.

Le metodiche di dosaggio utilizzate per la determinazione dei parametri biochimici sono state rispettivamente per la creatininemia: metodo cinetico colorimetrico con sodiopicrato in soluzione alcalina (metodo di Jaffè) ; per la calcemia e la calciuria nelle urine delle 24 ore: metodo colorimetrico all'O-cresoftaleina complessato (CPC); per la fosforemia: metodo colorimetrico al molibdato di ammonio Henry; per la proteinuria nelle urine delle 24 ore: metodo turbidimetrico con cloruro di benzetonio (BEC). Il dosaggio della BALP è stato eseguito mediante metodo immunoenzimatico con kit commerciale ELISA, basata sul riconoscimento della molecola con anticorpi monoclonali. Il dosaggio del PTH è stato effettuato con tecnica immunoradiometrica (IRMA) basata su un doppio anticorpo monoclonale (anticorpo “di cattura” legante la porzione C-terminale e quello “tracciante” legante quella N-terminale) verso la molecola intatta ; il nostro range di riferimento è di 11-62 pg/mL (ECL-Nuss-Baum) Il dosaggio dell'1,25diidrossivitaminaD RIA è stato effettuato con kit commerciale

IDS che prevede una immunoestrazione seguita da quantizzazione con un metodo radioimmunologico che utilizza I^{125} come tracciante.

Nel nostro laboratorio il range di normalità è compreso tra 19,9 e 67 pg/mL. La determinazione della 25idrossivitaminaD RIA è stata eseguita con kit commerciale DiaSorin, che prevede una procedura a due fasi. La prima fase prevede la separazione dalle proteine leganti e l'estrazione dal plasma/siero utilizzando un protocollo di estrazione e precipitazione con acetonitrile; dopo l'estrazione il campione trattato viene analizzato usando una procedura RIA incubando contemporaneamente il campione con un anticorpo anti-25idrossi-vitaminaD altamente specifico ed il tracciante ^{125}I -25-OH-D. Il dosaggio dell'FGFG23 è stato effettuato con un Kit commerciale ELISA (Kainos Lab. Inc. Tokyo, Japan), che prevede il riconoscimento della molecola intatta utilizzando due anticorpi murini monoclonali. Il dosaggio della concentrazione sierica degli immunosoppressori (Tacrolemia e Ciclosporinemia) è stato eseguito con metodo immunoenzimatico ACMIA.

I dati sono presentati come media \pm DS. Il test di Student è stato utilizzato per valutare le differenze tra il tempo zero e la fine del trattamento a 4 settimane nella prima fase di terapia. L'analisi della varianza per dati non parametrici (ANOVA) con valutazione post-hoc con il test di Bonferroni era usata per comparare le variazioni dai valori basali e dopo 12 settimane, con cadenze quadri settimanali. Veniva inoltre valutato il P trend di variazione settimanale. I dati sono stati elaborati mediante

software R . Un valore di $p < .05$ rappresentava una differenza statisticamente significativa.

Risultati

Da un totale di 20 pazienti portatori di trapianto renale (TPX), seguiti presso l'ambulatorio di nefrologia, abbiamo arruolato 19 pazienti affetti da IPSP ipercalcemico post-trapianto che rispondevano ai criteri di eleggibilità. **[Figura 3]**. Le caratteristiche cliniche basali dei pazienti sono mostrate nelle **[Tabelle 1a-1b]**. Tutti erano trapiantati in media da 7 anni con una funzione renale stimata di 56 ± 20 ml/min (eGFR,MDRD) (Stadio CKD 1-3 KDOQI) ed in terapia immunosoppressiva con Steroidi, Inibitori della Calcineurina ed Antimetaboliti in varie associazioni. Dei 19 pazienti arruolati 16 completavano la fase di randomizzazione. Tre dei 19 pazienti uscivano dallo studio dopo la prima fase di Lead-in poiché non risultavano essere eleggibili per la successiva fase di randomizzazione che richiedeva un valore di calcemia $< 10,2$ mg/dl.

I Fase (Lead-in): dopo 4 settimane di terapia con Cinacalcet alla dose media di 35 ± 12 mg/die vi era una riduzione significativa dei livelli sierici di Calcemia (da $11,06 \pm 0,57$ a $9,79 \pm 0,42$ mg/dl; trend settimanale: $-0,28$ mg/dl; $p < .0001$), Paratormone

(da 133 ± 43 a 100 ± 3 pg/ml; trend settimanale: $-8,26$ pg/ml; $p<.001$), FGF23 (da $80,9\pm 24,8$ a $58,4\pm 17,2$ pg/ml; trend settimanale: $-5,65$ pg/ml; $p<.0001$) ed un incremento della Fosforemia (da $2,71\pm 0,41$ a $3,20\pm 0,50$ mg/dl; trend settimanale: $+0,13$ mg/dl; $p<.0001$). Nessuna variazione vi era per gli altri parametri: BALP, 1,25VitaminaD, Calciuria e Proteinuria delle 24 ore. **[Tabella 2]**

II Fase (Randomizzazione): dopo 12 settimane dalla randomizzazione nel Gruppo di pazienti (Gruppo A) che aveva continuato ad assumere Cinacalcet (dose media a 12 settimane: 41 ± 15 mg/die) non vi era alcuna modifica dei parametri valutati, mentre nel Gruppo randomizzato a Paricalcitol (Gruppo B) (dose media a 12 settimane: $0,8\pm 0,3$ mcg/die) vi era un incremento significativo dei valori di Calcemia (da $9,70\pm 0,48$ a $10,8\pm 0,40$ mg/dl; trend settimanale: $+0,075$ mg/dl; $p<.0001$) ed FGF23 (da 65 ± 17 a $112\pm 0,40$ pg/ml; trend settimanale: $+4,11$ pg/ml, $p<.005$) mentre i livelli sierici di BALP mostravano un significativo trend settimanale di riduzione (da 38 ± 44 a 32 ± 38 mcg/L; trend settimanale: $-0,55$ mcg/L, $p<.002$). La Fosforemia mostrava un lieve trend in riduzione anche se al limite della significatività (da $3,18\pm 0,50$ a $3,00\pm 0,70$ mg/dl; trend settimanale: $-0,029$ mg/dl, $p<.06$). **[Tabella 3]**

III Fase (Terapia combinata): dopo un periodo medio di $1,8\pm 1,1$ mesi di wash-out (range 1-4,5 mesi) 12 dei 16 pazienti iniziavano la terapia combinata con Cinacalcet (30 mg/die) e Paricalcitol (0,5 mcg/die). Il drop-out dei 4 pazienti (2 del Gruppo A e 2 del Gruppo B) era dovuto al ritiro del consenso a proseguire lo studio.

Dopo 12 settimane di terapia con Cinacalcet (dose media a 12 settimane: 34 ± 13 mg/die) e Paricalcitol (dose media a 12 settimane: $0,8\pm 0,3$ mcg/die) i pazienti mostravano una riduzione significativa dei livelli di Calcemia (da $10,88\pm 0,69$ a $10,08\pm 0,60$ mg/dl; trend settimanale: $-0,23$ mg/dl; $p<.01$) e PTH (da 116 ± 48 a 79 ± 30 pg/ml; trend settimanale: $-12,03$ pg/ml; $p<.02$), mentre nessuna variazione significativa era rilevata per gli altri parametri valutati. **[Tabella 4]** Nel corso del follow-up con la doppia terapia 2 pazienti (16%) hanno mostrato valori di calcemia $>10,5$ mg/dl ed 1 paziente (8%) valori $> 11,0$ mg/dl. **[Figure 4-5-6-7-8]**

Discussione e conclusioni

I dati del nostro studio mostrano che il Cinacalcet, almeno nel breve termine, si conferma essere efficace nella riduzione della Calcemia e del PTH con un effetto positivo anche sulla fosforemia che raggiunge valori normali. Nessuna modifica vi era in termini di calciuria, come invece talvolta viene riportato in letteratura [49]. ed interferenza con i farmaci immunosoppressori [52]. Sempre nel breve periodo vi era una riduzione significativa dell'FGF23 come descritto da altri autori [13] e ciò può contribuire alla normalizzazione della fosforemia. Nella successiva fase di randomizzazione non vi erano tuttavia ulteriori modifiche dei livelli di PTH ed

FGF23 a fronte di un dosaggio medio del farmaco superiore che nella fase iniziale (41 ± 15 mg/die vs 35 ± 12 mg/die) usato per mantenere valori di calcemia $< 10,5$ mg/dl. E' ipotizzabile che, a fronte di un effetto rapido sulla calcemia, tempi più lunghi siano necessari per un'ulteriore soppressione dell'attività paratiroidea dipendenti dal grado di ipertrofia cellulare ed espressione recettoriale sia dei CaSR che dei VDR.

La funzione renale, in termini di clearance della creatinina stimata (MDRD) si manteneva stabile durante tutte le fasi dello studio non confermando alcune segnalazioni in letteratura di incremento della creatinemia in alcuni casi reversibile dopo riduzione o sospensione del farmaco [46]. Nonostante studi di cinetica abbiano mostrato l'influenza del Cinacalcet sui livelli sierici di alcuni immunosoppressori (inibitori della calcineurina), i nostri dati non mostrano modifiche significative. La terapia con Paricalcitol ha di contro mostrato di non essere in grado di contenere l'ipercalcemia, tuttavia i livelli sierici del calcio nella fase di randomizzazione hanno mostrato un rialzo con valori che sono tornati ai livelli basali senza ulteriori incrementi. Ciò conferma l'effetto non ipercalcemizzante dell'analogo rispetto al Calcitriolo [62]. Durante la terapia con Paricalcitol il PTH si è mantenuto stabile non mostrando quindi incrementi facendo supporre comunque una efficacia sulla soppressione paratiroidea. Un risultato interessante è dato dalla riduzione dei livelli di BALP che denotano la specificità di azione dell'analogo sull'osso. Studi in vitro hanno mostrato un minor effetto

sull'osteoclastogenesi dell'analogo Paricalcitol rispetto alla Vitamina D attiva (1,25D) . Dati della letteratura confermano tale effetto in pazienti con CKD stadio 2-4 in cui il Paricalcitol riduceva significativamente la BALP e tale effetto persisteva anche a 60 giorni dalla sospensione del farmaco [67]. Nell'IPACT Study, in pazienti in HD, che confrontava l'effetto della terapia con Paricalcitol versus Cinacalcet più aggiunta di basse dosi di VitaminaD sul controllo dell' IPS, è evidenziata la maggior efficacia del Paricalcitol ed il suo significativo effetto nel ridurre la BALP rispetto al calciomimetico [68].

Sempre con la terapia con il Paricalcitol vi era un trend al rialzo dei livelli di FGF23 che tornavano ai valori basali. Tale incremento tuttavia non sembra influenzare i livelli di fosforemia che invece si mantengono nella norma. I nostri dati non mostrano, al contrario della letteratura [64] un effetto del Paricalcitol sulla proteinuria, ma c'è da sottolineare che la nostra popolazione aveva già basalmente valori trascurabili di proteinuria.

Interessante è il risultato della terapia combinata che ha mostrato un'efficacia nel controllo della calcemia e di soppressione del PTH con dosaggi di entrambi i farmaci anche inferiori rispetto alle terapie singole. L'andamento dei livelli sierici di BALP, seppure non significativo, mostra comunque una tendenza alla riduzione. Inoltre anche con l'associazione non si sono evidenziate modifiche in termini di funzione renale, incrementi della calciuria o modifiche dei livelli sierici dei farmaci immunosoppressori.

Dai nostri dati possiamo concludere che una terapia medica dell'IPSP Ipercalcemico può essere efficace, come già dimostrato con il solo Cinacalcet, ma che l'associazione con il Paricalcitol può oltre che aumentare l'efficacia sulla soppressione paratiroidea anche ampliare gli effetti sull'osso per un'azione diretta.

La terapia combinata potrebbe inoltre ridurre l'indicazione al trattamento chirurgico che per questa tipologia di pazienti è ancora indicata con una certa frequenza [20]. Questo è il primo studio che valuta l'efficacia del Paricalcitol nella terapia dell'IPSP ipercalcemico. Sembra ragionevole considerare il suo utilizzo anche in questa forma di IPSP, anche se opportuno in associazione, per gli effetti aggiuntivi che può dare oltre il controllo del PTH. Il suo effetto sull'osso infatti può essere di estrema importanza proprio su questa forma di IPSP che potrebbe avere le manifestazioni ossee più importanti.

I risultati di questo studio pilota consentono di ipotizzare l'uso della terapia medica anche nei pazienti con IPSP Ipercalcemico.

Figura 1- Disegno dello studio

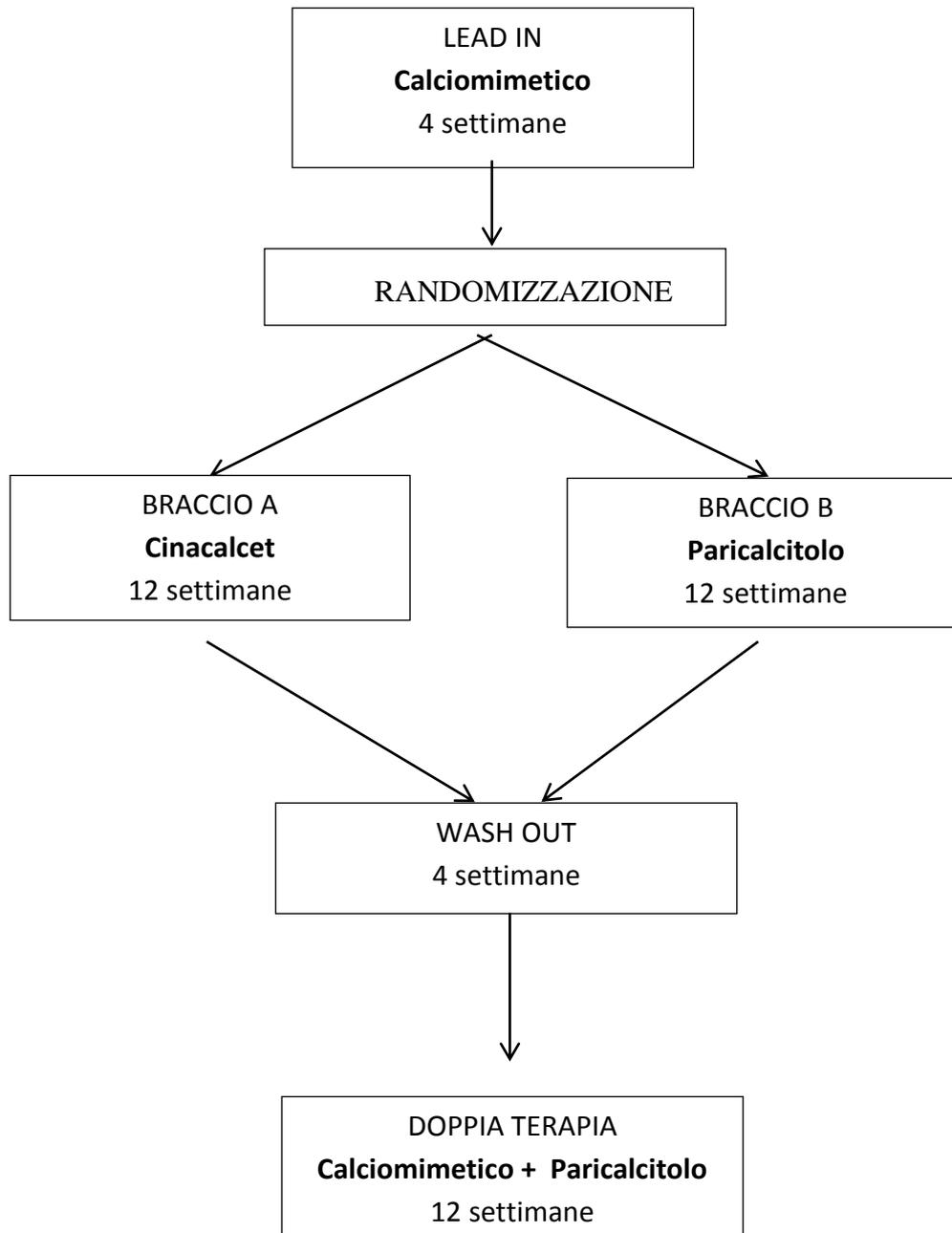


Figura 2- Protocollo terapia combinata

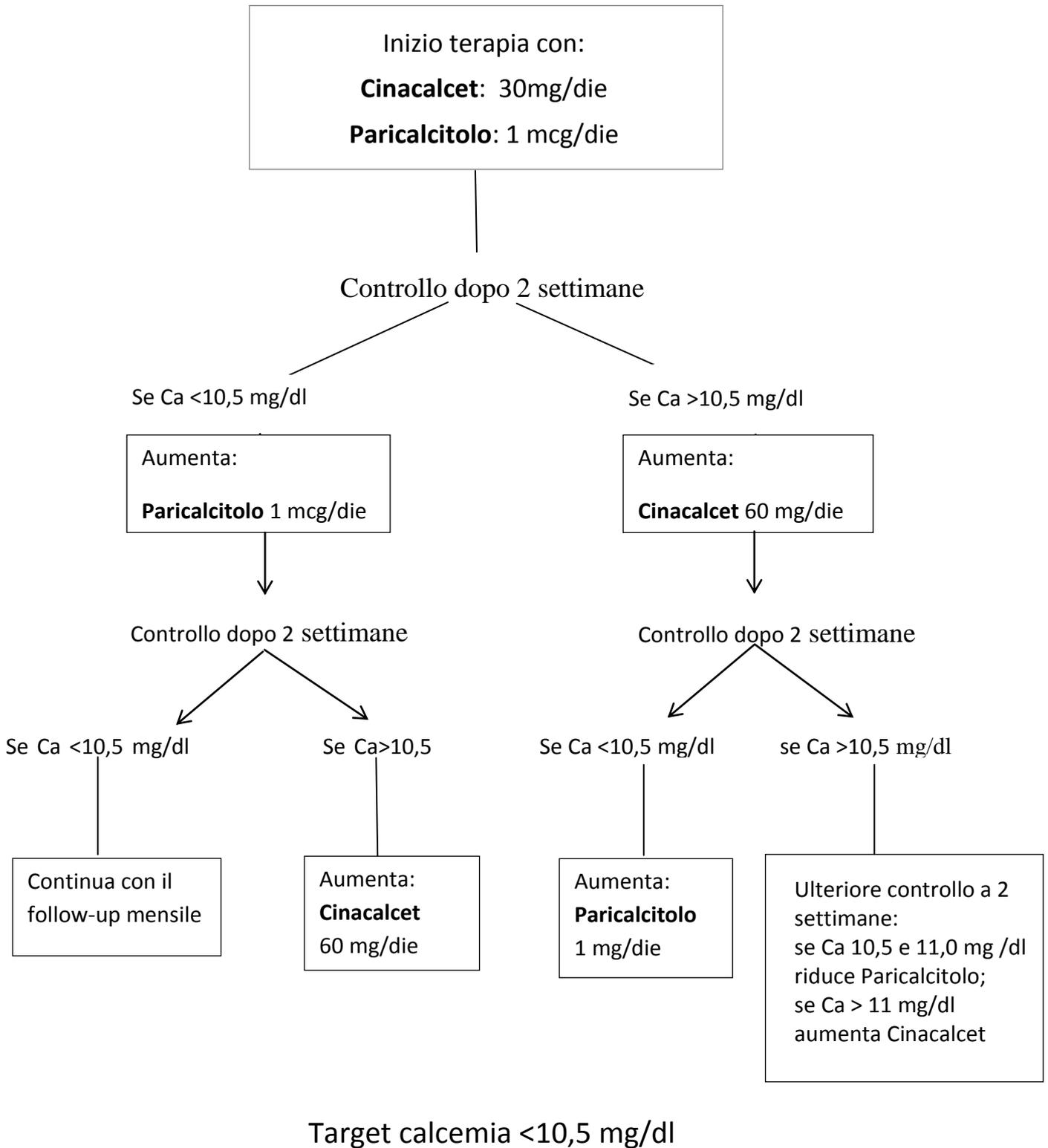


Figura 3-Svolgimento dello studio

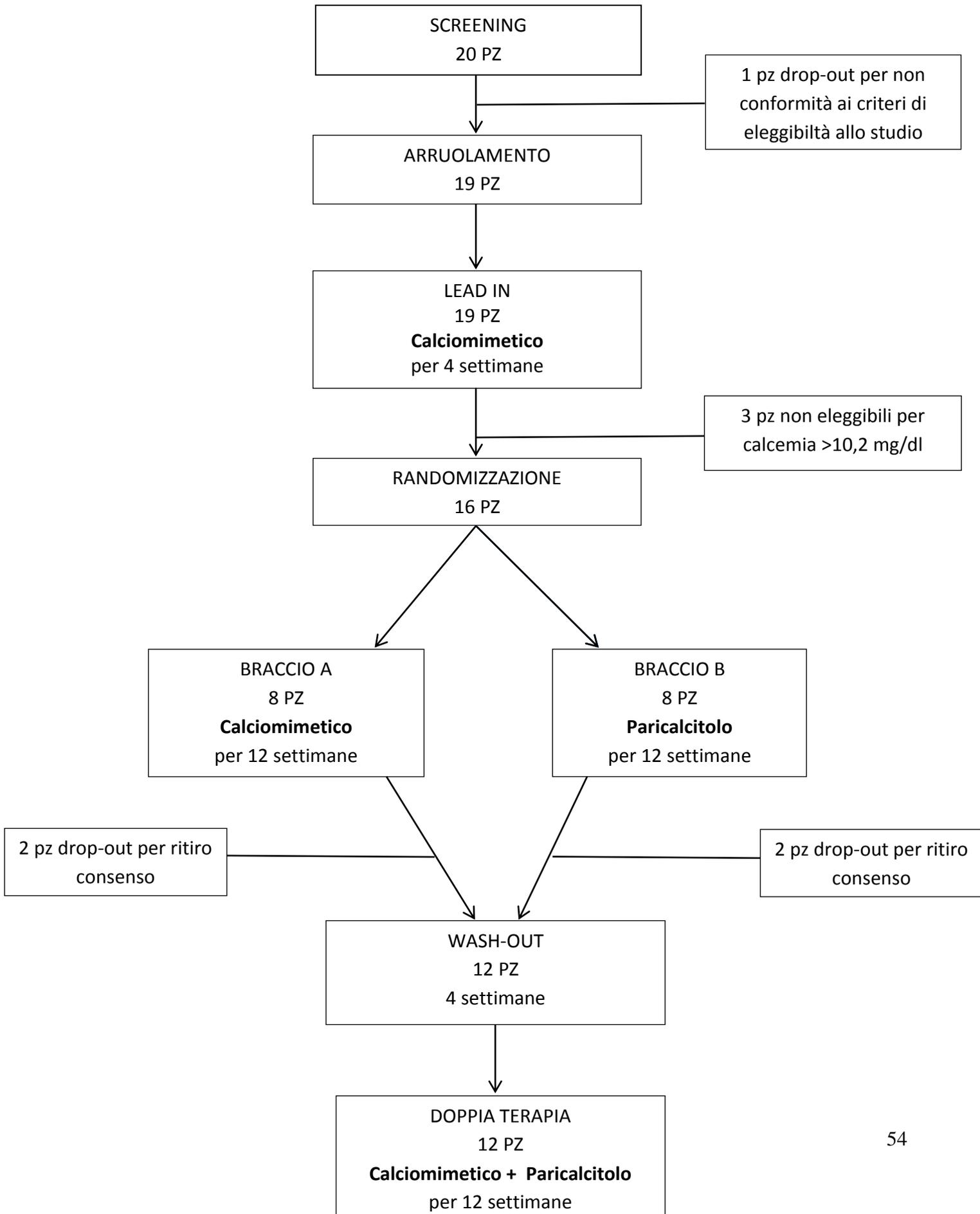


Tabella 1 a- Caratteristiche cliniche

Parametri clinici dei 19 pazienti risultati eleggibili per lo studio

	pz arruolati 19
Età, anni	53 ± 6
Sesso	4 F / 15 M
Età trapianto, anni	7,6 ± 5,7
Clear. Creatinina, ml/min	56 ± 20
Patologia di base:	GN di Berger: 3 GN membranosa: 2 GSFS: 1 Nefropatia da DM: 2 S. di Alport :1 Pielonefrite: 1 ADPKD : 1 Nefropatia ndr: 8
Terapia Immunosoppressiva:	
Steroide+Inibitori Calcineurina + Micofenolato	13 = 68,4%
Steroide + Inibitori delle calcineurine	3 = 15,7%
Inibitori Calcineurina + Micofenolato	3 = 15,7%

Tabella 1b- Caratteristiche biochimiche

Sono riportati parametri biochimici della popolazione oggetto di studio

	pz arruolati 19
Calcemia (mg/dl)	11,07 ± 0,86
Fosforemia (mg/dl)	2,77 ± 0,50
PTH (pg/ml)	127,4 ± 43,47
1,25diidrossi vitamina D (pg/ml)	52,05 ± 14, 02
25idrossi vitamina D (ng/ml)	22,8 ± 6,13
Fosfatasi alcalina ossea (µg/L)	43,16 ± 42,47
Calciuria delle 24 h (mg/24h)	187,37 ± 139,88
Proteinuria delle 24 h (g/24h)	0,255 ± 0,106

Tabella 2 - Lead in

Sono riportati i parametri biochimici della popolazione oggetto di studio rilevati basalmente e dopo 4 settimane di terapia con Cinacalcet.

Cinacalcet (dose media 35 ± 12 mg/die)			
settimane	0	4	P<
N° pazienti	16	16	
Età (anni)	54 ± 7		
ClCr (ml/min/1,73m ²)	58 ± 20	59 ± 18	n.s.
Ca (mg/dl)	11,06 ± 0,57	9,79 ± 0,42	0,0001
P (mg/dl)	2,71 ± 0,41	3,2 ± 0,5	0,005
PTH (pg/ml)	133 ± 43	100 ± 37	0,02
BALP (µg/L)	35 ± 36	35 ± 31	n.s.
1,25 D (pg/ml)	59 ± 26	60 ± 23	n.s.
Klotho	601 ± 160	608 ± 160	n.s.
FGF23 (pg/ml)	80,9 ± 24,8	58,4 ± 17,2	0,006
Ca u/24h (mg/24h)	164 ± 118	176 ± 134	n.s.
Prot u/24h (mg/24h)	159 ± 64	143 ± 57	n.s.

Tabella 3 - Randomizzazione

Sono riportati i parametri biochimici della popolazione oggetto di studio rilevati basalmente e dopo 4, 8 e 12 settimane dall'inizio della terapia con Cinacalcet (gruppo A) o con Paricalcitol (gruppo B).

Cinacalcet (dose media 41 ± 15 mg/die)					
Settimane	0	4	8	12	P<
N° pazienti	8	8	8	8	
Età (anni)	50 ± 6				
ClCr (ml/min/1,73m ²)	55 ± 17	57 ± 20	53 ± 20	56 ± 18	n.s.
Ca (mg/dl)	9,9 ± 0,5	9,9 ± 0,4	9,7 ± 0,5	10,0 ± 0,6	n.s.
P (mg/dl)	3,3 ± 0,5	3,1 ± 0,4	3,3 ± 0,7	3,3 ± 0,5	n.s.
PTH (pg/ml)	107 ± 36	120 ± 53	117 ± 40	93 ± 37	n.s.
BALP (µg/L)	33 ± 12	34 ± 11	34 ± 14	34 ± 10	n.s.
1,25 D (pg/ml)	62 ± 25	50 ± 21	61 ± 13	55 ± 15	n.s.
Klotho	666 ± 103			659 ± 137	n.s.
FGF23 (pg/ml)	50,8 ± 14,1	47,7 ± 16,1	50,9 ± 19,2	48,8 ± 17,7	n.s.
Ca u/24h (mg/24h)	231 ± 171			191 ± 128	n.s.
Prot u/24h (mg/24h)	140 ± 54			122 ± 75	n.s.
Paricalcitol (dose media 0,8 ± 0,3 mcg/die)					
Settimane	0	4	8	12	P<
N° pazienti	8	8	8	8	
Età (anni)	57 ± 8				
ClCr (ml/min/1,73m ²)	63 ± 19	65 ± 25	64 ± 22	64 ± 20	n.s.
Ca (mg/dl)	9,7 ± 0,48	10,9 ± 0,7	10,6 ± 0,6	10,8 ± 0,4	0,0001
P (mg/dl)	3,1 ± 0,5	2,9 ± 0,5	2,6 ± 0,4	3,0 ± 0,7	n.s.
PTH (pg/ml)	92 ± 39	97,5 ± 24,3	111,8 ± 52,5	86,4 ± 39,1	n.s.
BALP (µg/L)	38 ± 44	37 ± 38	32 ± 40	32,7 ± 38	0,002
1,25 D (pg/ml)	58 ± 23	45 ± 18	49 ± 24	61 ± 31	n.s.
Klotho	549 ± 191			550 ± 197	n.s.
FGF23 (pg/ml)	65,9 ± 17,4	97,7 ± 51,6	104,0 ± 62,9	112,7 ± 89,1	0,005
Ca u/24h (mg/24h)	128 ± 74			147 ± 63	n.s.
Prot/24h (mg/24h)	146 ± 63			139 ± 34	n.s.

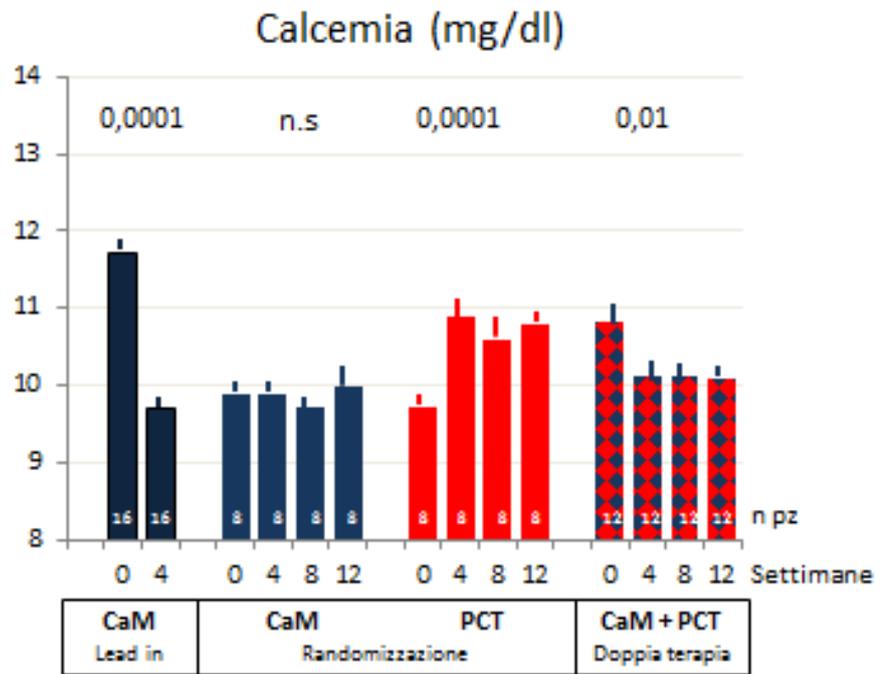
Tabella 4- Terapia combinata

Sono riportati i parametri biochimici della popolazione oggetto di studio rilevati al termine del periodo di wash-out e dopo 4, 8 e 12 settimane dall'inizio della terapia combinata con Cinacalcet + Paricalcitol.

Cinacalcet + Paricalcitol					
(34 ±13 mg/die) + (0,8 ± 0,3 mcg/die)					
Settimane	WO	4	8	12	P<
N° pazienti	12	12	12	12	
Età (anni)	54 ± 7				
ClCr (ml/min/1,73m ²)	58 ± 21	52 ± 20		54 ± 20	
Ca (mg/dl)	10,88 ± 0,69	10,19 ± 0,65		10,08 ± 0,60	0,01
P (mg/dl)	2,82 ± 0,38	3,27 ± 0,60		3,26 ± 0,53	n.s
PTH (pg/ml)	116 ± 48	99 ± 48		79 ± 30	0,02
BALP (µg/L)	38 ± 33	33 ± 25		31 ± 20	n.s.
1,25 D (pg/ml)	53 ± 22			37 ± 15	0,04
Cau/24h (mg/24h)	155 ± 112	210 ± 136		205 ± 148	n.s.
Prot/24h (mg/24h)	261 ± 197	204 ± 121		191 ± 93	n.s.

Figura 4- Calcemia

La figura mostra l'andamento della Calcemia nelle diverse fasi dello studio (Lead in- Randomizzazione- Doppia terapia). I valori sono espressi come Media \pm Errore standard.

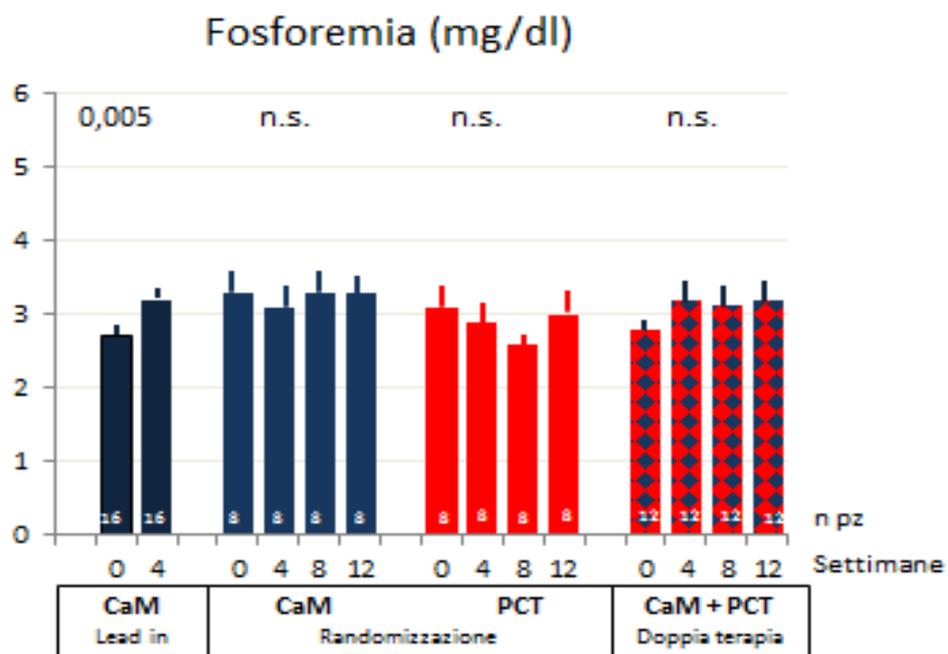


M \pm ES

P trend settimanale

Figura 5 – Fosforemia

La figura mostra l'andamento della Fosforemia nelle diverse fasi dello studio (Lead in- Randomizzazione- Doppia terapia). I valori sono espressi come Media \pm Errore standard.

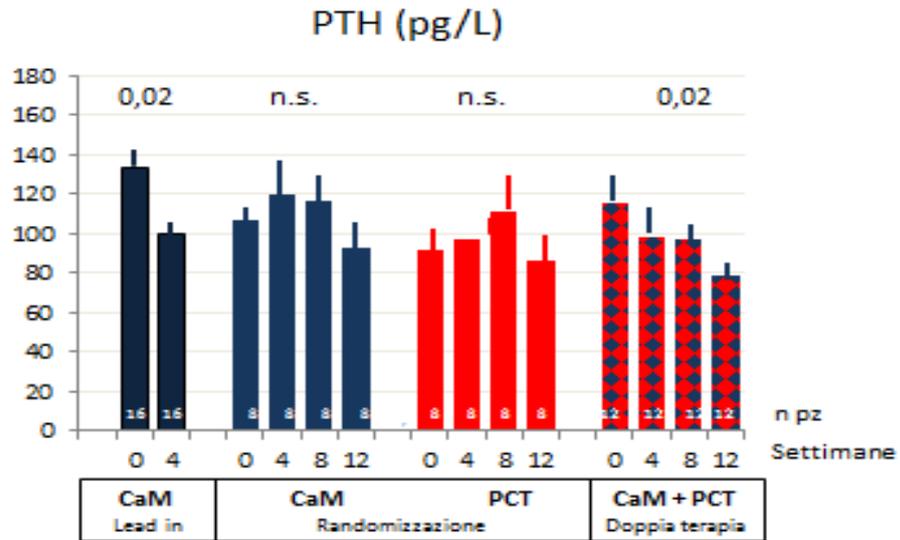


M \pm ES

P trend settimanale

Figura 6 – PTH

La figura mostra l'andamento del PTH nelle diverse fasi dello studio (Lead in- Randomizzazione- Doppia terapia). I valori sono espressi come Media \pm Errore standard.



M \pm ES
P trend settimanale

Figura 7 – BALP

La figura mostra l'andamento della BALP nelle diverse fasi dello studio (Lead in- Randomizzazione- Doppia terapia). I valori sono espressi come Media \pm Errore standard.

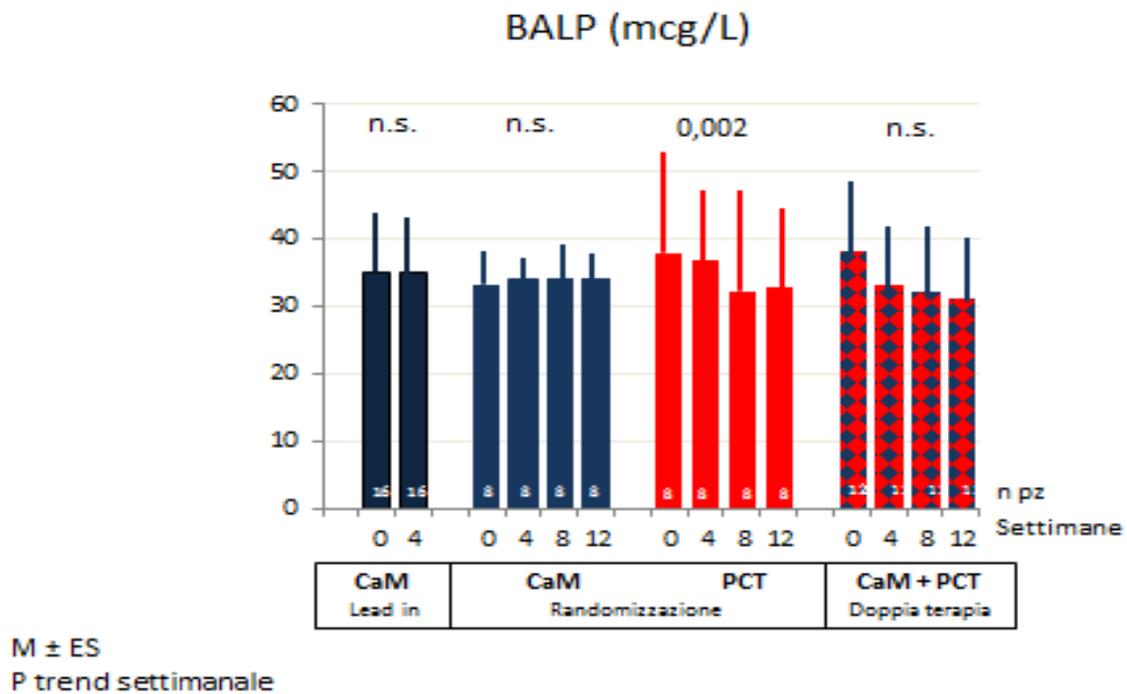
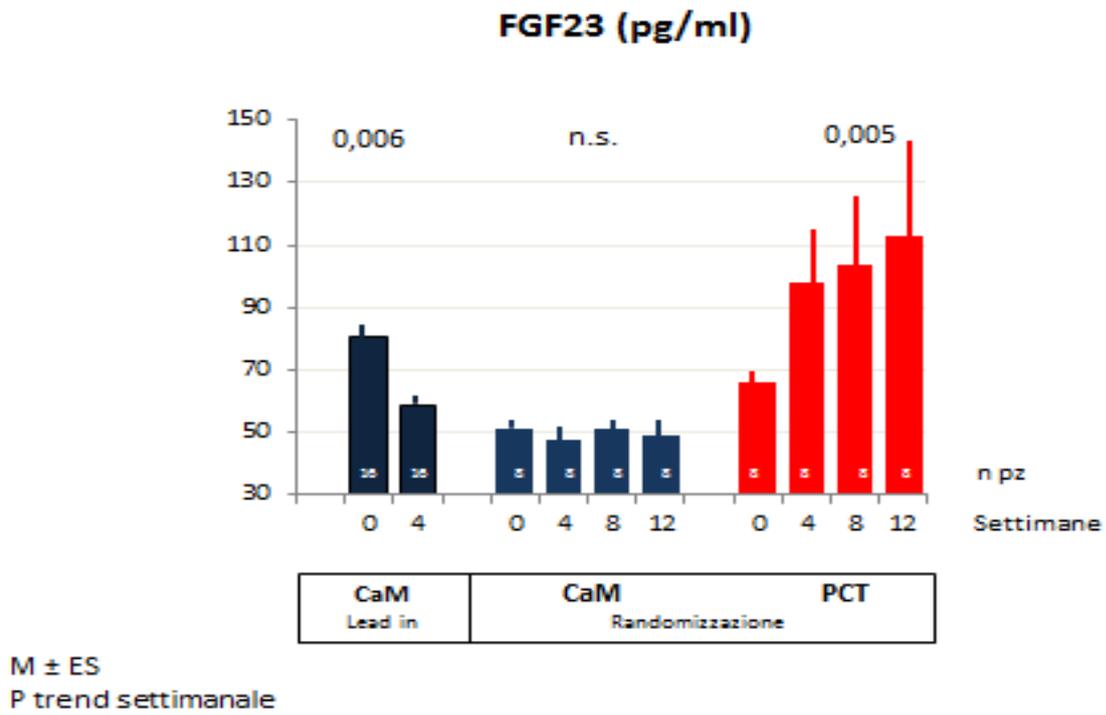


Figura 8 - FGF23

La figura mostra l'andamento dell' FGF23 nelle diverse fasi dello studio (Lead in-Randomizzazione). I valori sono espressi come Media \pm Errore standard.



BIBLIOGRAFIA

- [1] Hiroo Karawazaki, Yugo Shibagaki, Seiji Fukumoto et al. The relative role of fibroblast growth factor 23 and parathyroid hormone in predicting future hypophosphatemia and hypercalcemia after living donor kidney transplantation: a 1- year prospective observational study. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26:2691-2695.
- [2] Evenepoel P, Claes K, Kuypers D, Maes B, Bammens B, Vanrenterghem Y: Natural history of parathyroid function and calcium metabolism after kidney transplantation: a single- centre study. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 1281-1287.
- [3] Messa PG, Cafforio C, Alfieri C. Impatto clinico dell'ipercalcemia nel trapianto renale. *Giornale Italiano di Nefrologia* 2010; anno 27, n1: 47-55.
- [4] Frederic Triponez, Orlo H, Clark, Yves Vanrenterghem, Pieter Evenepoel. Surgical treatment of persistent hyperparathyroidism after kidney transplantation. *Annals of Surgery* 2008; Vol 248 n1.
- [5] Copley JB, Wütrich RP. Therapeutic management of post-kidney transplant hyperparathyroidism. *Clin Transplant* 2011; 25: 24-39.
- [6] Evenepoel P, Van Den Bergh B, Naesens M, De Jonge H et al. Calcium

metabolism in early posttransplantation period. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 665-672.

- [7] Torres A, Lorenzo V, Salido E. Calcium metabolism and skeletal problems after transplantation. *Am J Soc Nephrol* 2002; 13: 551-558.
- [8] Sophie A. Jamal and Paul D. Miller. Secondary and tertiary hyperparathyroidism. *Journal of Cinical Densitometry* 2013; 16: 64-68.
- [9] Mazzaferro S, Pasquali M, Pugliese F, Citterio F, Gargiulo A, et al. Distinct impact of vitamin D insufficiency on calcitriol levels in chronic renal failure and renal transplant patients: a role for FGF23? *J Nephrol* 2012; 25(6):1108-18.
- [10] Levi M. Post-transplant hypophosphatemia. *Kidney International* 2001; 59: 2377-2387.
- [11] Lotscher M, Scarpetta Y, Levi M. Rapid downregulation of renal Na/Pi-cotransporter in response to parathyroid hormone: Role of microtubule rearrangement. *J Clin Invest* 1999; 104: 483-494.
- [12] Pasquali M, Frasheri A, Rotondi S, Tartaglione L, mazzaferro S. La malattia ossea post- trapianto. *Tecniche Nefrologiche e Dialitiche* 2011; anno XXIII, n3.
- [13] Madhumanthi Raho, Priyanka J, Temitope O, Gautam S, and Vaidyanathapuram B. Fibroblast growth factor and mineral metabolism parameters among prevalent kidney transplant patients. *International Journal of Nephrology* 2012; pp6.
- [14] Ana I. Sanchez Fructuoso, Maria L. Maestro, Isabel Perez-Flores et al. Serum level

of fibroblast growth factor 23 in maintenance renal transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27: 4227-4235.

- [15] Evenepoel P, Meijers K.I. et al. Recovery of hyperphosphatemia and renal phosphorus wasting one year after successful renal transplantation. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 2008; 3: 1829-1836.
- [16] Gwinner W, Suppa S. et al. Early calcification of renal allograft detected by protocol biopsies: causes and clinical implication. *American Journal of Transplantation* 2006; 5: 1934-1941.
- [17] Habbig S, Beck BB et al. Renal allograft calcification- prevalence and etiology in pediatric patients. *Am Journal Nephrol* 2009; 30 (3). 194-200.
- [18] Moyses-Neto M, Guimaraes FM et al. Acute renal failure and hypercalcemia. *Ren. Fail.* 2006; 28(2):153-9.
- [19] Boom H, Mallat M J.K, Fijter J et al. Calcium levels as a risk factor for delayed graft function. *Transplantation* 2004; 77: 868-873.
- [20] Hala M. Alshayeb, Michelle A. Josephson, and Stuart M. Sprague. CKD-Mineral and Bone Disorders management in kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis.* 2013; 61(2): 310-325.
- [21] Mazzaferro S, Pasquali M, Taggi F, Baldinelli M, Conte C, Muci MI, Pirozzi N et al. Progression of coronary calcification in renal transplantation and the role of

secondary hyperparathyroidism and inflammation. *Clin J Am Soc of Nephrol* 2009; 4: 685-690.

- [22] Linee guida KDIGO 2009; vol 76 suppl. 113
- [23] Canalis E. Mechanism of glucocorticoid action in bone. *J Clin Invest* 1998; 81: 3441-7.
- [24] Inoue T, Kawamura I, Matsuo M, Aketa M, et al. Lesser reduction in bone mineral density by the immunosuppressant Fk-506, compared with cyclosporine in rats. *Transplantation* 2000; 70: 774-749.
- [25] Patel S, Kwan JT, McCloskey E, et al. Prevalence and causes of low bone density and fractures in kidney transplant patients. *J Bone Min Res* 2001; 16: 1863-70.
- [26] Kneissel M, Luong-Nguyen NH, Baptist M, et al. Everolimus suppresses cancellous bone loss, bone resorption and cathepsin K expression by osteoclast. *Bone* 2004; 35: 1144-56.
- [27] Akcay A, Kanbay M, Huddam B. Relationship of posttransplantation erythrocytosis to hypercalcemia in renal transplant recipients. *Transpl Proc* 2008; 37(7): 3103-5.
- [28] Kurella M, Butterly D, and Smith S. Post transplant erythrocytosis in hypercalcemic renal transplant recipients. *American J Transpl* 2003; 3:873-877.

- [29] Evenepoel P, Claes K, Kuypers D, Debruyne F, and Vanrenterghem Y. Parathyroidectomy after successful kidney transplantation: a single centre study. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 1730-1737.
- [30] Schlosser K, Endres N, Celik I, Fendrich V, et al. Surgical treatment of tertiary hyperparathyroidism: the choice of procedure matters!. *World J Surg* 2007; 31(10): 1947-53.
- [31] Hsieh TM, Sun CK, Cheen YT, Chou FF. Total parathyroidectomy versus subtotal parathyroidectomy in the treatment of tertiary hyperparathyroidism. *Am Surg* 2012; 78: 600-606.
- [32] Schwarz A, Gunnar R, Merkel S, et al. Decreased renal transplant function after parathyroidectomy. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 584-591.
- [33] Jespersen B, Randlov A, Abrahamsen J, et al. Effect of PTH on blood pressure, renal function, and hormones in essential hypertension: the altered pattern of reactivity may counteract raised blood pressure. *Am J Hypertens* 1997; 10: 1356-1367.
- [34] Schwarz A, Mengel M, Gwinner W, et al. Risk factor for chronic allograft nephropathy after renal transplantation: a protocol biopsy study. *Kidney Int* 2005; 67: 341-348.
- [35] Evenepoel P, Claes K, Kuypers D, Maes B and Vanrenterghem Y. Impact of

parathyroidectomy on renal function, blood pressure and serum lipids in kidney transplant recipients: a single centre study. *Nephrol Dial Transpl* 2005; 20: 1714-1720.

- [36] Barenbrock M, Hausberg M, Kosch, et al. Effect of hyperparathyroidism on arterial distensibility in renal transplant recipients. *Kidney Int* 1998; 54: 210-215.
- [37] Serra A L, Schwarz A, Wick FH, Marti H-P, and Wutrich R. Successful treatment of hypercalcemia with cinacalcet in renal transplant recipients with persistent hyperparathyroidism. *Nephrol DialTransplant* 2005; 20: 1315-1319.
- [38] Bai M. Structure-function relationship of the extracellular calcium-sensing-receptor. *Cell calcium* 2004; 35: 197-207.
- [39] Ward, DonaldT. Calcium receptor- mediated intracellular signalling. *Cell Calcium* 2004; 35: 217-28.
- [40] Brown EM. Calcium receptor and regulation of parathyroid hormone secretion. *Rew Endocrine and Metab Dis* 2000; 1: 307-15.
- [41] Messa G, Como G, Brezzi B. I calciomimetici. *Giornale Italiano di Nefrologia* 2006; anno XXIII, n 1: pp 12-21.
- [42] Kumar GN, Sproul C, Poppe L, et al. Metabolism and disposition of calcimimetic agent cinacalcet HCl in humans and animal models. *Drug Metab Dispos* 2004; 32: 1491-500.
- [43] Colloton M, Shatzen E, Miller G, et al. Cinacalcet HCl attenuates parathyroid

hyperplasia in a rat model of secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2005; 67: 467-76.

- [44] Paschoalin RP, Torregrosa JV, Sánchez-Escuredo A, Barros X et al. Cinacalcet treatment for stable kidney transplantation patients with hypercalcemia due to persistent secondary hyperparathyroidism: along-term follow-up. *Transplant Proc* 2012; 44(9):2588-9.
- [45] Kruse A, Eisenberger U, Frey FJ, and Mohaupt G. The calcimimetic cinacalcet normalizes serum calcium in renal transplant patients with persistent hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1311-1314.
- [46] Serra AL, Savoca R, Huber A, et al. Effective control of persistent hyperparathyroidism with cinacalcet in renal allograft recipients. *Nephrol Dial Transpl* 2007; 22: 577-583.
- [47] Bergua C, Torregrosa J-V, Fuste D, et al. Effect of cinacalcet on hypercalcemia and bone mineral density in renal transplanted patients with secondary hyperparathyroidism. *Transplantation* 2008; vol 86 n 3.
- [48] Hebert SC, Cheng S, Geibel J. Functions and roles of the extracellular CaSR in the gastrointestinal tract. *Cell Calcium* 2004; 35: 275-82.
- [49] Borchhardt K, Heinzl H, Mayerwoger E, et al. Cinacalcet increases calcium excretion in hypercalcemic hyperparathyroidism after kidney transplantation. *Transplantation* 2008; vol 86, n 7.

- [50] Huang C, Miller RT. Regulation of renal ion transport by the calcium-sensing-receptor: an update. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2007; 16: 437.
- [51] Rothe HM, Shapiro WB, Sun WY, Chou SY. Calcium-sensing-receptor gene polymorphism Arg 990Gly and its possible effect on response to cinacalcet HCl. *Pharmacogenetics and genomics* 2005; 15: 29-34.
- [52] Falck P, Vethe NT, Asberg A, Midtvedt K, et al. Cinacalcet's effect on the pharmacokinetics of tacrolimus, cyclosporine and mycophenolate in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 1048-1053.
- [53] Cozzolino M, Pasho S, Crovetto C, Missaglia E. Trattamento dell'iperparatiroidismo secondario: calciomimetici, attivatori selettivi del recettore della vitamina D (VDRAs) o terapia combinata? *Tecniche Nefrologiche e Dialitiche* 2007; anno XIX, n3/4.
- [54] Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol* 1999; 277: 157-175.
- [55] Philip Felig, John D. Baxter, Lawrence A, Frohman: *Endocrinology and Metabolism* Mc Graw- Hill.
- [56] Cozzolino M, Brancaccio D, Gallieni M, et al. Pathogenesis of parathyroid hyperplasia in renal failure. *J Nephrol* 2005; 18(1): 5-8.
- [57] Dennis L. Andress. Vitamin D treatment in chronic kidney disease. *Seminars in Dialysis* 2005; 18, n 4; pp 315-321.

- [58] S. Mazzaferro, M. Pasquali, C. Conte, G. Mandanici, ML Muci, R. Lavini. Vitamin D activators. *The international Journal of Artificial Organs* 2009; vol 32, n 2.
- [59] Ross EA, Tian J, Abboud H, et al. Oral paricalcetriol for the treatment of secondary hyperparathyroidism in patients on hemodialysis or peritoneal dialysis. *Am J Nephrol* 2008; 28: 97-106.
- [60] Brown AJ, Finch J, Slatopolsky E. Differential effects of 19-nor-1,25-dihydroxyvitamin D(2) and 1,25-dihydroxyvitamin D(3) on intestinal calcium and phosphate transport. *J Lab Clin Med* 2002; 139: 279-84.
- [61] Lund RJ, Andress DL, Amdahl M, Williams LA, Heaney RP. Differential effects of paricalcetriol and calcitriol on intestinal calcium absorption in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2010; 31: 165-170.
- [62] Cheng J, Zhang W, Zhang X, Li X, Chen J. Efficacy and safety of paricalcitol therapy for chronic kidney disease: a meta-analysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012; 7: 391-400.
- [63] Slatopolsky E, Cozzolino M, Lu Y, et al. Efficacy of 19-nor-1,25-dihydroxyvitamin D(2) in the prevention and treatment of hyperparathyroid bone disease in experimental uremia. *Kidney Int* 2003; 63: 2020-2027.
- [64] Matthew R. Weir. Short-term effects of vitamin D receptor activation on serum creatinine, creatinine generation, and glomerular filtration. *Kidney Int* 2011; 80:

1016-1017.

- [65] Levey AS, Bosch JP, Lewis JB et al. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999; 130(6): 461-470.
- [66] K/DOQI: Definition and classification of stages of chronic kidney disease. *Am J Kid Dis* 2002; 39:46-75
- [67] D. W. Coyne, D.L.Andress, M.J. Amdahl, E.Ritz and D. de Zeeuw. Effects of paricalcitol on calcium and phosphate metabolism and markers of bone health in patients with diabetic nephropathy: results of the VITAL study. *Nephrol Dial Transplant* (2013) 28: 2260–2268.
- [68] M.Ketteler, K.J.Martin, M. Wolf, M. Amdahl, M.Cozzolino, D. Goldsmith, A. Sharma, S.Marx and S. Khan. Paricalcitol versus cinacalcet plus low-dose vitamin D therapy for the treatment of secondary hyperparathyroidism in patients receiving haemodialysis: results of the IMPACT SHPTstudy. *Nephrol Dial Transplant* (2012) 27: 3270–3278.

