

# Fisiopatologia del metabolismo calcio fosforo

## Patogenesi dell'iperparatiroidismo secondario: nuove acquisizioni

S. Mazzaferro, M. Pasquali

Dipartimento di Scienze Cliniche, Università degli Studi di Roma "La Sapienza", Roma



S. Mazzaferro

La patogenesi dell'iperparatiroidismo secondario (IPS) risulta da un complesso insieme di disordini tipicamente rappresentato in tutte le alterazioni del metabolismo calcio-fosforico che si riscontrano nel paziente nefropatico.

Per molti anni si è ritenuto che l'alterazione principale scatenante l'IPS fosse una riduzione dei livelli calcemici, e in effetti è oggi noto che l'ipocalcemia aumenta i livelli di paratormone (PTH) attraverso vari meccanismi: rapidamente mediante liberazione del PTH preformato presente nei granuli citoplasmatici; nell'arco di ore, per l'azione su alcune proteine che stabilizzano l'mRNA del PTH, con successivo aumento della sintesi di pre-pro-PTH; e infine, entro alcuni giorni-settimane, per aumento della proliferazione delle cellule paratiroidi. Causa possibile della ipocalcemia in corso di insufficienza renale è stata considerata la iperfosforemia post-prandiale, risultante da un carico dietetico di fosfati, non eliminato dal rene malato. Il secondario incremento del PTH, aumentando la fosfaturia e il riassorbimento del calcio dall'osso, ristabiliva la normale omeostasi calcio-fosforica al prezzo di una cronica stimolazione paratiroidica. Successivamente questa ipotesi è stata ridimensionata dal riscontro di livelli di fosforo normali o bassi, anche nel periodo post-prandiale, in presenza di insufficienza renale iniziale ma già con aumento del PTH. L'ipocalcemia è stata dun-

que riferita alla ridotta sintesi di calcitriolo, secondaria alla aumentata concentrazione dei fosfati a livello intracellulare; infatti ciò ridurrebbe l'attività dell' $1\alpha$ -idrossilasi renale a livello delle cellule del tubulo prossimale e la produzione dell' $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  ( $1,25\text{D}$ ), prima di ogni iperfosforemia. Altri fattori successivamente coinvolti quali concause di ipocalcemia, sono l'alterazione del set-point del calcio e il diretto effetto modulatore dell' $1,25\text{D}$  sulla secrezione del PTH. Comunque, la visione aggiornata della patogenesi dell'IPS vede prevalere, da un punto di vista biochimico, la riduzione dei livelli di  $1,25\text{D}$ , che in studi epidemiologici recenti rappresenta l'alterazione più precoce nel corso dello sviluppo di IRC (1).

Significativi sono i progressi fatti di recente nella comprensione della fisiologia e fisiopatologia della Vitamina D. È noto da tempo che questa vitamina, sintetizzata dalle cellule della cute come 7-deidrocolesterolo, viene dapprima trasformata dai raggi UV in colecalciferolo e poi, trasportata in circolo da una specifica proteina, subisce una prima idrossilazione a livello epatico ( $25\text{OH}$ -Vitamina  $\text{D}_3$ ) e una successiva trasformazione nella forma attiva  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (calcitriolo) a livello renale. L' $1\alpha$ -idrossilazione renale è responsabile della fine regolazione che garantisce il ristretto range di concentrazione normale del calcitriolo, i cui livelli risultano, per confronto, mille volte inferiori rispetto al precursore, notoriamente molto meno attivo,  $25\text{OH}$ -Vitamina  $\text{D}_3$ . Poiché la Vitamina D è completamente sintetizzata nell'organismo, può essere considerata a tutti gli effetti un ormone.

Nella regolazione di questo sistema ormonale sono im-

portanti i meccanismi di trasporto e la interazione con il recettore specifico.

Due sono le proteine che regolano il trasporto: la Vitamin D Binding Protein (DBP) e la megalina. La DBP è una glicoproteina presente nel sangue a una concentrazione in eccesso rispetto all'ormone: infatti solo il 5% dei siti di potenziale legame accolgono normalmente la Vitamina D e i suoi metaboliti. Questa proteina può svolgere pertanto anche un rilevante ruolo fisiologico, di tamponamento dei livelli ematici, con sottrazione dal catabolismo e/o dalla azione (2, 3). La megalina, invece, localizzata a livello del tubulo renale prossimale, riassorbe il complesso 25OHD-DBP filtrato dal rene e, oltre a conservare i livelli circolanti di 25OHD, favorisce l'attivazione di questo metabolita da parte della  $1\alpha$ -idrossilasi renale, ivi presente. In tal modo è possibile ipotizzare che una riduzione dell'attività della megalina, per esempio nelle patologie interstiziali, possa essere una causa di ridotta sintesi di calcitriolo (4).

Le azioni dell' $1,25D$  avvengono tramite interazione con un recettore specifico, il Vitamin D Receptor (VDR), che fa parte della superfamiglia dei recettori ormonali nucleari deputati a modulare l'espressione genica delle cellule target. Composto di una singola catena polipeptidica di 427 aminoacidi, il VDR è caratterizzato da almeno tre domini funzionali: il C-terminale per il legame con l'ormone; la parte DNA legante e quella amino-terminale per i processi di trascrizione. Il controllo della trascrizione genica da parte del VDR prevede numerose tappe: il legame ad alta affinità del dominio C-terminale con l' $1,25D$ ; la migrazione del complesso VDR- $1,25D$  nel nucleo; la formazione di un eterodimero con un recettore del retinolo ("Retinoid X Receptor", RXR); il legame del complesso così formato con una regione specifica del DNA (detta "Vitamin D Response Element", VDRE); l'interazione con una lunga serie di proteine che hanno il ruolo di cofattori della reazione che infine porta alla produzione di mRNA per specifiche proteine. È anche noto che, in alcune cellule, il legame dell'eterodimero  $1,25D$ -VDR-RXR con il DNA può avvenire con un VDRE negativo; in questo caso il DNA è normalmente in fase di sintesi e l'arrivo del complesso determina una repressione della sintesi di mRNA. Si comprende dunque come gli effetti determinati dall'interazione Vitamina D-VDR sono diversi a seconda dell'organo bersaglio (5).

Il VDR è stato localizzato su organi classicamente coinvolti nel metabolismo minerale, quali paratiroidi, intestino, rene e osso. Gli effetti biologici sono così costituiti da: soppressione della secrezione, sintesi e crescita delle cellule paratiroidi; aumento dell'assorbimento intestinale del calcio; stimolazione del riassorbimento del calcio a livello del tubulo distale renale; stimolazione degli

osteoblasti e della osteoclastogenesi.

L'effetto biologico finale della Vitamina D, attraverso questi effetti, è sostanzialmente di regolazione dei livelli calcemici. A questo riguardo il meccanismo d'azione della Vitamina D a livello intestinale, renale ed osseo risulta oggi meglio compreso. È noto infatti che l' $1,25D$  attiva, mediante il meccanismo genico sopra descritto, la sintesi di specifiche proteine deputate al trasporto transcellulare del Ca. In particolare l' $1,25D$  agisce stimolando la sintesi proteica di proteine che costituiscono canali di trasporto ad alta selettività per il calcio (il TRPV5 e TRPV6) e proteine di trasferimento e/o di estrusione del Ca dalle cellule (calbindina, NCX1, PMCA1b) (6). Nell'osso la Vitamina D stimola a livello dell'osteoblasta la produzione di una proteina il RANKL (o ligando del RANK) che, legandosi al suo recettore il RANK, espresso sulla membrana dei preosteoclasti, stimola l'aggregazione e la trasformazione di questi in osteoclasta maturo. In tal modo la Vitamina D attiva il riassorbimento osseo, ma, contemporaneamente, con un fine meccanismo, attua un'autoregolazione del fenomeno. Infatti, sempre a livello osteoblastico, la Vitamina D stimola anche la sintesi di Osteoprotegerina, una proteina capace di legarsi al RANKL e prevenirne il legame con il RANK (7).

La localizzazione dei VDR su organi bersaglio diversi da quelli classici quali mammella, colon, fegato, prostata, cute, muscoli, pancreas, organi riproduttivi, sistema immunitario, tessuto nervoso, tessuto emopoietico, ha evidenziato ruoli inattesi per la Vitamina D che risulta pertanto in grado di determinare effetti biologici diversi da quelli relativi al mantenimento dell'equilibrio degli ioni divalenti. In questi organi, attraverso l'induzione o la soppressione della sintesi di proteine specifiche la Vitamina D produce effetti pleiotropici che, senza entrare nei dettagli, possiamo genericamente definire di tipo anti-proliferativo e prodifferenziativo.

Inoltre, è noto da tempo che la Vitamina D è in grado di produrre effetti biologici rapidi per i quali non è possibile ipotizzare un meccanismo di azione a livello genomico. Si ipotizza pertanto la esistenza di un recettore transmembrana cui attribuire la stimolazione rapida da parte della Vitamina di una serie di attivatori citoplasmatici (fosfochinasi, catena MAPK ecc.) responsabili dell'aumento molto rapido della concentrazione intracellulare del calcio, del GMPc e della fosfochinasi C.

La Vitamina D rappresenta quindi un ormone che agisce, attraverso almeno un recettore, su numerose cellule target con effetti biologici eterogenei che vanno oltre quelli classici sul metabolismo minerale. È quindi possibile ipotizzare che la carenza di Vitamina D nell'uremia determini non solo l'IPS, ma anche effetti sistemici al momento non completamente definiti.

Stabilito che la riduzione dell'ormone Vitamina D rappresenta l'alterazione più precoce nella genesi dell'IPS ed esaminati i suoi nuovi aspetti fisiologici, analizziamo le novità relative al calcio, i cui livelli sono analogamente ridotti nella IRC e responsabili di un importante stimolo alla secrezione di PTH. Un determinante principale dei livelli ematici di Ca è certamente il suo trasporto epiteliale che avviene a livello intestinale con meccanismo passivo paracellulare ed attivo transcellulare. Analogamente a livello renale il calcio è riassorbito per l'85% nell'ansa di Henle per la via passiva paracellulare e per il restante 15% nel tubulo distale con trasporto attivo transcellulare. Meno noti sono i meccanismi di trasporto a livello osseo. L'assorbimento attivo, transcellulare, del calcio si attua mediante specifici canali, identificati con le sigle TRPV5 (presente soprattutto a livello renale) e TRPV6 (presente a livello intestinale). Si tratta di proteine altamente selettive responsabili dell'ingresso del Ca nella cellula a livello apicale. Proteine di trasporto intracellulare (Calbindina) trasferiscono lo ione nella sede basocellulare dove pompe di estrusione (NCX1, PMCA1b) comandano l'immissione nel torrente ematico. L'entità dell'assorbimento del calcio dipende dal flusso che avviene a livello della porzione apicale ed è quindi determinata dalla numerosità/stabilità dei canali del calcio (TRPV5/6). Questi complessi meccanismi evidenziano l'importanza e il modo di azione della Vitamina D nel favorire l'assorbimento del calcio (6). A livello renale anche il PTH stimola il riassorbimento del calcio attraverso la coordinata espressione delle proteine di trasporto. In particolare, i CaSR contribuiscono alla regolazione dell'assorbimento del calcio modulando la risposta, in termini di sintesi di TRPV5, all'azione del PTH (8). Possiamo dunque concludere che il trasporto del calcio è controllato da due recettori, quello della Vitamina D (VDR) e quello del calcio (CaSR). È noto che questi recettori sono alterati a livello paratiroideo nella insufficienza renale; è ipotizzabile che un'analogia alterazione in altri sistemi cellulari possa costituire la base dell'alterata omeostasi del Ca che si osserva nella uremia.

Analogamente al calcio, anche il fosforo viene assorbito a livello intestinale, con meccanismo sia passivo che attivo. Quest'ultimo è regolato dalla presenza di un cotrasportatore sodio/fosforo (Na-Pi 2b), presente negli enterociti a livello baso laterale. Un cotrasportatore molto simile è presente anche a livello tubulare renale (Na-Pi 2a) ed anche in questo caso l'entità dell'assorbimento è influenzata dalla sua espressione sulla membrana cellulare. Sia il Paratormone che alcune fosfatoni (in particolare FGF23) sono in grado di modulare l'espressione di questo trasportatore, facilitando entrambe l'internalizzazione della pompa e la sua distruzione lisosomiale (9, 10).

Nell'insufficienza renale cronica l'assorbimento intestinale del fosforo è normale mentre risulta ridotta l'escrezione renale, responsabile principale della iperfosforemia. La presenza di iperfosforemia, nell'uremia, induce ipersecrezione, ipertrofia ed iperplasia delle paratiroidi. Un meccanismo riconosciuto è di tipo post-trascrizionale, essendo la iperfosforemia in grado di stabilizzare l'mRNA messaggero deputato alla sintesi del PTH (11). L'ipertrofia e l'iperplasia delle cellule paratiroidi sono associate a una riduzione dell'espressione sia dei VDR (12) che dei CaSR (13). Altre alterazioni che caratterizzano le paratiroidi sono un patologico aumento dei markers di proliferazione e la presenza di crescita cellulare monoclonale, a volte di tipo autonomo.

Anche per il paratormone ci sono nuove acquisizioni. Infatti, oltre alla molecola intatta, vengono riconosciuti effetti biologici anche ad alcuni frammenti. In particolare è stata individuata un'attività del frammento PTH 7-84. Il meccanismo di azione non è ancora completamente noto, ma potrebbe agire riducendo l'espressione del recettore del PTH, ovvero tramite un nuovo, ipotetico recettore specifico, C-term, con effetto finale di antagonismo dell'azione ipercalcemizzante della molecola intatta (PTH 1-84) (14). Sembra pertanto che le cellule paratiroidi producano due ormoni con effetti opposti: il PTH 1-84 che agisce attraverso il noto recettore N-terminale e ha azione ipercalcemizzante e il PTH 7-84 che agisce attraverso un ipotetico recettore C-terminale e/o riducendo l'espressione del recettore N-terminale, con un'azione ipocalcemizzante.

Significativi progressi sono stati compiuti anche nella comprensione della omeostasi del fosforo. In particolare è oggi chiaro che la fosfaturia PTH indipendente, nota già da alcuni anni e riferita alla ipotetica presenza di fosfatoni, va riferita a una proteina in particolare, l'FGF23 (15). Si tratta di una proteina circolante, prodotta dalle cellule ossee, capace di ridurre l'espressione delle proteine di trasporto NaPi2a e di determinare fosfaturia. Inoltre, a differenza del PTH, l'FGF23 inibisce la attività 1-alfa idrossilasi e determina quindi una ridotta sintesi di calcitriolo. I suoi livelli sierici risultano aumentati molto precocemente nell'insufficienza renale, lasciando così ipotizzare ad alcuni Autori che l'FGF23 rappresenti la prima alterazione biochimica indicativa di iperparatiroidismo secondario, responsabile della riduzione dei livelli di 1,25D. Il meccanismo di azione dell'FGF23 non è ancora perfettamente noto; ma sembra certo che agisca attraverso almeno un recettore specifico, espresso a livello renale, paratiroideo, del plesso corioide e ipofisario (16). Tuttavia l'affinità dell'FGF23 per il suo recettore è piuttosto bassa e perché si abbia un significativo effetto biologico, è necessaria la presenza di un cofattore, oggi

identificato nella proteina cosiddetta Klotho. Gli effetti di questa nuova proteina non sono ancora completamente definiti, ma si ritiene che sia implicata nei processi di invecchiamento dell'uomo. È accertato che la proteina Klotho agisce a livello delle cellule tubulari renali stabilizzando la proteina di trasporto TRPV5, aumentando il riassorbimento del calcio. È noto che l'1,25D rappresenta un importante stimolo alla sintesi della proteina Klotho, che di rimando inibisce la 1-alfa idrossilasi. Oltre a questo evidente coinvolgimento nell'omeostasi degli ioni minerali, Klotho ha azione anti apoptotica, riduce lo stress ossidativo, protegge il rene dal danno ischemico e influenza la crescita dell'osso. Questa molteplicità di azione viene invocata per spiegare il suo ruolo protettivo nei confronti dell'invecchiamento (17). Lo stretto legame funzionale tra Klotho e FGF23 implica un coinvolgimento anche della fosfatina nel processo dell'invecchiamento. Tra le novità, occorre ancora far riferimento a un'altra proteina, questa volta prodotta dal rene e dotata di effetti a livello osseo. La Bone Morphogenetic Protein-7 (BMP-7), è una delle proteine morfogenetiche dell'osso, note da molti anni perché in grado di stimolare i processi di formazione ossea. Si tratta di una citochina ad azione complessa, capace tra l'altro di influenzare i processi di trans-differenziazione delle cellule (18). I suoi livelli sierici sono ridotti nell'insufficienza renale e questo, secondo alcuni Autori (in particolare Hruska K et al), potrebbe rappresentare la causa di una precoce riduzione della differenziazione osteoblastica e del rimodellamento osseo. Ne deriverebbe uno stimolo alla secrezione paratiroidea, come meccanismo adattativo che tende a normalizzare il rimodellamento osseo. L'aumento del PTH produrrebbe le note lesioni ossee, compresa la fibrosi midollare. In una situazione di riduzione dei livelli di BMP-7 e quindi di ridotta capacità di maturazione e differenziazione delle cellule ossee proliferanti, la somministrazione di 1,25D è certamente in grado di ridurre la secrezione paratiroidea, ma anziché normalizzare la lesione ossea, diventa responsabile di osso dinamico. In effetti i sostenitori di questa ipotesi hanno dimostrato nell'animale da esperimento reso uremico, che la somministrazione di BMP-7 è in grado di curare sia le lesioni istologiche iperparatiroidee che quelle dinamiche (19, 20).

Per completezza occorre ricordare che oltre a FGF23-Klotho e BMP-7, altre proteine vengono studiate per il loro potenziale coinvolgimento nella omeostasi delle cellule ossee e quindi del metabolismo minerale. Citiamo ad esempio le interleuchine (IL-1, IL-6, IL-11), i fattori di crescita (GM-CSF, M-CSF), il sistema OPG/RANK/RANKL, le proteine di connessione e comunicazione delle cellule ossee (Caderina e Connexina), per sottolineare che le

loro funzioni le rendono potenziali fattori patogenetici dell'iperparatiroidismo secondario.

In conclusione è evidente che il metabolismo Ca-P è regolato finemente da un sistema complesso che cominciamo solo ora a comprendere. L'IPS rappresenta una complessa alterazione metabolica tipica della insufficienza renale la cui patogenesi è certamente complessa e non limitabile a una alterata sintesi di Vitamina D (oggi responsabile sia di alterazioni del metabolismo degli ioni divalenti che di alterazioni di tipo sistemico). Occorre infatti considerare l'intervento di numerosi altri fattori quali: l'alterazione del trasporto cellulare del calcio e del fosforo, una patologica ipertrofia-iperplasia delle paratiroidi, l'aumentata produzione di PTH con la presenza di frammenti attivi con azioni imprevedute, la ridotta espressione di recettori specifici (VDR e CaSR) sulle cellule target, gli effetti sistemici della iperfosforemia e infine l'alterazione dei livelli circolanti di nuove proteine di segnale tra osso e rene.

Indirizzo degli Autori:  
Dr. Sandro Mazzaferro  
Via Ada Negri, 49  
00137 Roma  
sandro.mazzaferro@uniroma.it

## Bibliografia

1. Levin A, Bakris GL, Molitch M, et al. Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidney disease. *Kidney Int* 2007; 71(1): 31-8.
2. Haddad JG Jr, Walgate J. 25-Hydroxyvitamin D transport in human plasma. Isolation and partial characterization of calcidiol-binding protein. *J Biol Chem* 1976; 251(16): 4803-9.
3. Cooke NE, Haddad JG. Vitamin D binding protein (Gc-globulin). *Endocr Rev* 1989;10(3): 294-307. Review.
4. Christensen EI, Birn H, Verroust P, Moestrup SK. Megalin-mediated endocytosis in renal proximal tubule. *Ren Fail* 1998; 20(2): 191-9. Review.
5. Brown AJ, Dusso A, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol* 1999; 277(2 Pt 2): F157-75. Review.
6. Hoenderop JG, Nilius B, Bindels RJ. Calcium absorption across epithelia. *Physiol Rev* 2005; 85(1): 373-422. Review.
7. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther* 2007; 9 (Suppl 1): S1. Review.
8. Van Abel M, Hoenderop JG, van der Kemp AW, Friedlander MM, van Leeuwen JP, Bindels RJ. Coordinated control of renal Ca(2+) transport proteins by parathyroid hormone. *Kidney Int* 2005; 68(4): 1708-21.
9. Bacic D, Wagner CA, Hernando N, Kaissling B, Biber J, Murer H. Novel aspects in regulated expression of the renal type IIa Na/Pi-cotransporter. *Kidney Int* 2004; 91(Suppl): S5-12. Review.
10. Forster IC, Hernando N, Biber J, Murer H. Proximal tubular handling of phosphate: A molecular perspective. *Kidney Int* 2006; 70(9):1548-59.
11. Kilav R, Bell O, Le SY, Silver J, Naveh-Manly T. The parathyroid hormone mRNA 3'-untranslated region AU-rich element is an unstructured functional element. *J Biol Chem* 2004; 279(3): 2109-16.
12. Brown AJ, Dusso A, Lopez-Hilker S, Lewis-Finch J, Grooms P, Slatopolsky E. 1,25-(OH)2D receptors are decreased in parathyroid glands from chronically uremic dogs. *Kidney Int* 1989; 35(1): 19-23.
13. Brown AJ, Ritter CS, Finch JL, Slatopolsky EA. Decreased calcium-sensing receptor expression in hyperplastic parathyroid glands of uremic rats: role of dietary phosphate. *Kidney Int* 1999; 55(4):1284-92.
14. Slatopolsky E, Finch J, Clay P, Martin D, Sicard G, Singer G, Gao P, Cantor T, Dusso A. A novel mechanism for skeletal resistance in uremia. *Kidney Int* 2000; 58(2): 753-61.
15. Quarles LD. Evidence for a bone-kidney axis regulating phosphate homeostasis. *J Clin Invest* 2003; 112(5): 642-6.
16. Liu S, Quarles LD. How Fibroblast Growth Factor 23 works. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 1637-47.
17. Razzaque MS, Lanske B. Hypervitaminosis D and premature aging: lessons learned from Fgf23 and Klotho mutant mice. *Trends Mol Med* 2006; 12(7): 298-305.
18. Mazzaferro S. Is there any role predictable for bone morphogenetic protein-7 in nephrology? *G Ital Nefrol* 2006; 23(2): 129-37.
19. Lund KJ, Davies MR, Brown AJ, Hruska KA. Successful treatment of an adynamic bone disorder with bone morphogenetic protein-7 in a renal ablation model. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 359-69.
20. Mathew S, Davies M, Lund R, Saab G, Hruska KA. Function and effect of bone morphogenetic protein-7 in kidney bone and the bone-vascular links in chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest* 2006; 36 (Suppl 2): S43-50.