

João Miguel Machado Dória Frazão

**Hiperparatiroidismo Secundário no Doente Insuficiente Renal Crónico Terminal
em Hemodiálise:
Da Patogenese ao Tratamento.
Uma Abordagem mais Segura com um Novo Derivado da Vitamina D.**

**Tese de Candidatura ao Grau de Doutor Apresentada à Faculdade de Medicina
do Porto.**

Porto 1999

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO

A - Fisiopatologia da Osteodistrofia Renal.

B – Revisão Histórica sobre o Uso de Calcitriol.

C – Conceitos Actuais no Uso de Calcitriol para o Tratamento da Osteodistrofia Renal.

1 – Introdução.

2 - Carbonato de cálcio e/ou acetato de cálcio como quelantes do fósforo.

Efeito sobre o metabolismo do cálcio, sobre a função paratiroideia e sobre o uso de calcitriol.

3 - Selecção de doentes com insuficiência renal crónica terminal para terapia com calcitriol.

4 - Diferenças entre a terapêutica contínua e a intermitente com calcitriol.

5 - Comparação do tratamento com calcitriol intermitente por via oral com o tratamento intermitente por via intravenosa.

6 - Resultados dos estudos a longo prazo da terapêutica com o calcitriol por via intravenosa intermitente e por via oral intermitente.

7 - Variabilidade das respostas terapêuticas e a razão para a resistência á terapêutica.

8 - Factores intrínsecos das glândulas paratiroideias e resposta ao calcitriol.

9 - Recomendações para a terapêutica com o calcitriol em doentes com insuficiência renal crónica.

D – Os Novos Compostos Derivados da Vitamina D.

E – O Receptor do Cálcio e os Agentes Calcimiméticos.

1 – Introdução

2 - Características do receptor de cálcio

3 - Função do CaR nas células paratiroideias

4 - Função do CaR no rim

5 - CaR noutros tecidos

6 - Distúrbios clínicos envolvendo o CaR

7 - Uso experimental e clínico de agentes calcimiméticos

F - 1-Alfa-Hidroxivitamina D₂: Dados da Experiência em Animais e no Homem que Serviram de Base para a Elaboração dos Estudos Apresentados

II - ESTUDOS SOBRE O DESENVOLVIMENTO DA 1-ALFA-HIDROXIVITAMINA D₂

A – ESTUDO NUM MODELO ANIMAL:

Estudo Comparativo da Toxicidade da 1-alfa-hidroxivitamina D₂ com a 1-alfa-hidroxivitamina D₃ Administradas por Via Oral, em Ratos.

- Introdução**
- Material e Métodos**
- Resultados**
- Discussão e Conclusões**

B – ESTUDOS NO HOMEM RELATIVOS À SEGURANÇA E EFICÁCIA DA 1-ALFA-HIDROXIVITAMINA D₂ PARA O TRATAMENTO DO HIPERPARATIROIDISMO SECUNDÁRIO EM DOENTES EM HEMODIÁLISE:

ESTUDO 1: A Eficácia e a Segurança da 1-alfa-hidroxivitamina D₂, Administrada Por Via Oral de Forma Intermitente, no Tratamento do Hiperparatiroidismo Secundário em Doentes Hemodialisados

- Introdução**
- Material e Métodos**
- Resultados**

ESTUDO 2: Terapêutica Intermitente com a 1-alfa-Hidroxivitamina D₂ para o Hiperparatiroidismo Secundário: Resultados de um Estudo Controlado, Multicêntrico e Duplamente Cego.

- Introdução**

-Material e Métodos

-Resultados

ESTUDO 3: Uso da 1-Alfa-Hidroxivitamina D₂ Intravenosa em Doentes em Hemodiálise com Hiperparatiroidismo Secundário Moderado a Grave.

-Introdução

- Material e Métodos

- Resultados

C - DISCUSSÃO E CONCLUSÕES DOS ESTUDOS NO HOMEM

D - REFERÊNCIAS

O Material apresentado nesta tese faz parte das seguintes publicações:

Coburn JW, Frazão JM.

Calcitriol in the Management of Renal Osteodystrophy: A consideration of how to use calcitriol and when to treat.

Seminars in Dialysis 1996; 9(4):316-326.

Frazão JM, Levine BS, Tan Jr A, Mazess R, Kylo D, Knutson J, Bishop C, Coburn JW.

Efficacy and Safety of Intermittent Oral $1\alpha(\text{OH})$ -vitamin D_2 in Suppressing 2^0 hyperparathyroidism in hemodialysis patients.

Dialysis & Transplantation 1997; 26:583-595.

(Trabalho apresentado "1996 Annual Meeting of the American Society of Nephrology" em New Orleans).

Frazão JM, Chesney RW, Coburn JW, The $1\alpha\text{D}_2$ Study Group.

One-alpha hydroxy-vitamin D_2 ($1\alpha\text{-OH-D}_2$): An Effective and Safe Oral Agent for Suppressing PTH in Dialysis Patients with 2^0 Hyperparathyroidism.

Nephrology 1997;3(suppl 1):S298 (Abstract).

(Apresentado no Congresso da "International Society of Nephrology" realizado em Maio de 1997, Sidney, Australia).

Coburn JW, Frazão JM, Chesney RW, The $1\alpha\text{D}_2$ Study Group.

One-alpha-Hydroxyvitamin D_2 ($1\alpha\text{D}_2$) Suppresses PTH in Dialysis Patients with 2^0 Hyperparathyroidism.

Nephrol Dial Transplant 1997;12:1781 (Abstract).

(Trabalho apresentado no "II Simposio Internacional sobre Avances en

Osteodistrofia Renal", realizado em Março de 1997 em Oviedo, Espanha).

Frazão JM, Coburn JW, Chesney RW, The $1\alpha\text{D}_2$ Study Group.

Use of One-alpha-Hydroxyvitamin D_2 ($1\alpha\text{D}_2$) in 121 Hemodialysis Patients with Secondary Hyperparathyroidism: a Phase 3 Trial.

J Am Soc Nephrol 1997; 8:573A(Abstract).

(Poster com apresentação oral no "1997 Annual Meeting of the American Society of Nephrology" em Santo Antonio, Texas).

Frazão JM, Chesney RW, Coburn JW, The $1\alpha\text{D}_2$ Study Group.

Intermittent Oral $1\alpha(\text{OH})$ -vitamin D_2 is Effective and Safe for the Suppression of 2^0 Hyperparathyroidism in Hemodialysis Patients.

Nephrol Dial Transplant 1998, 13 (Suppl 3):68-72.

Frazão JM, Coburn JW, Chesney RW, The $1\alpha\text{D}_2$ Study Group.

Comparison of Intravenous with oral One-alpha-Hydroxyvitamin D_2 ($1\alpha\text{D}_2$) in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism.

J Am Soc Nephrol 1998: In Press (Abstract).

(Trabalho apresentado "1998 Annual Meeting of the American Society of Nephrology" em Filadelfia).

Coburn JW, **Frazão JM**, Chesney RW, The $1\alpha\text{D}_2$ Study Group.

Use of Intravenous One-alpha-Hydroxyvitamin D_2 ($1\alpha\text{D}_2$) in Hemodialysis Patients with Moderate-to-Severe Secondary Hyperparathyroidism.

Bone 1998, 23 (Suppl 5): S456(Abstract).

(Trabalho apresentado "1998 Annual Meeting of the American Society of Bone and Mineral

Research" em São Francisco).

Fraão JM, Coburn JW, Chesney RW, The $1\alpha D_2$ Study Group.

Serum Osteocalcin and Bone Alkaline Phosphatase in Hemodialysis Patients with Secondary Hyperparathyroidism Treated with One- α -Hydroxyvitamin D_2 : Evidence for Direct Action on Bone.

J Bone Miner Res 1998, 23 (Suppl 5): S457 (Abstract).

(Trabalho apresentado "1998 Annual Meeting of the American Society of Bone and Mineral Research" em São Francisco).

Fraão JM, Elangovan L, Chesney RW, Acchiardo SR, Bower JD, Kelley BJ, Rodriguez HJ, Norris KC, Robertson JA, Levine BS, Goodman WG, Gentile D, Mazess RB, Kylo DM, Douglass LL, Bishop CW, Coburn JW.

Intermittent Doxercalciferol (1α - Hydroxyvitamin D_2) Therapy for Secondary Hyperparathyroidism: Results of a Multicenter, Double Blinded, Controlled Study.

J Am Soc Nephrol: 1999 (Submitted).

Coburn JW, Elangovan L, Goodman WG, Fraão JM.

The Calcium Sensing Receptor and Calcimimetic Agents.

Kidney Int: 1999 (In Press).

Goodman WG, Fraão JM, Goodkin DA, Turner S, Liu W, Coburn JW.

The Calcimimetic, R568, Lowers Plasma Parathyroid Hormone Levels in Hemodialysis Patients with Secondary Hyperparathyroidism.

J Am Soc Nephrol: 1999 (In Press).

GLOSSÁRIO DE ABREVIATURAS

- 1 α D₂ – um-alfa-hidroxitamina D₂
1 α D₃ – um-alfa-hidroxitamina D₃
ADN – ácido deoxiribonucleico
ARN – ácido ribonucleico
ARNm – ácido ribonucleico mensageiro
BrdU – 5-bromodeoxiuridina
Ca – cálcio
Ca X P – produto dos níveis séricos de cálcio e fósforo
Ca ++ - cálcio ionizado
CTAL – porção espessa do ramo ascendente cortical da ansa de Henle
DPCA – diálise peritoneal contínua ambulatoria
DPCC – diálise peritoneal cíclica contínua
FHH – hipercalcemia familiar hipocalciúrica
HD – hemodiálise
HPAD – hipoparatiroidismo autossômico dominante
HPTNG – hiperparatiroidismo neonatal grave
IP3 – inositol 1,2,3-trifosfato
iPTH – hormona paratiroideia intacta
Mg - magnésio
P – fósforo
PLC – fosfolipase C
PTH – hormona paratiroide
PTVD – proteína de transporte da vitamina D
RXR – receptor do retinóide X
TFG – taxa de filtrado glomerular
VDR – receptor da vitamina D
VDRE – elemento de resposta à vitamina D

I. INTRODUÇÃO

Nos primeiros anos da diálise iterativa, tornou-se aparente que havia dois tipos principais de osteodistrofia renal: "a osteíte fibrosa cística", forma tipicamente causada pelo hiperparatiroidismo com fibrose peritrabecular, hiper celularidade dos osteoclastos e osteoblastos, e elevada remodelação óssea; e uma forma com um padrão de osteomalácia caracterizado histologicamente por um excesso de substância osteoide desmineralizada e uma remodelação óssea reduzida (1). A intoxicação alumínica foi posteriormente identificada como a causa desta osteomalácia do doente em hemodiálise (2). Um terceiro tipo de osteodistrofia, menos vulgar, era designada "osteodistrofia mista" com as características histológicas tanto da osteomalácia como da osteíte fibrosa. Entretanto, no início dos anos 80, foi caracterizada a lesão aplástica, com baixo número de osteoclastos e osteoblastos, sem aumento do volume osteoide, lesão essa de baixa remodelação ossea e causada pelo alumínio (3). Mais recentemente, reconheceu-se que a lesão aplástica deve-se menos frequentemente ao alumínio do que a outras causas (4).

Actualmente, a doença óssea devida ao hiperparatiroidismo quer na sua forma grave quer nas formas de apresentação ligeira, e também as lesões aplásticas não relacionadas com o alumínio, são as formas mais vulgares de osteodistrofia (5). Essas lesões mais vulgares resultam em grande parte do grau de hiperparatiroidismo presente e identificado pelos níveis de hormona paratiroideia (PTH) (6). Quando os níveis de PTH intacta estão bem suprimidos (<100 pg/ml) geralmente encontra-se a lesão aplástica. Se os valores estiverem entre 100 e 300 pg/ml, as lesões de osteíte fibrosa presentes são ligeiras. Nos doentes com PTH intacta acima de 300 pg/ml, a lesão de osteíte fibrosa é aquela que geralmente se reconhece. A incidência da "osteomalácia" encontra-se em acentuado declínio devido à

redução no uso do alumínio, sendo a "osteodistrofia urémica mista" também cada vez menos vulgar devido ao melhor controlo dos níveis de cálcio e fósforo. Todos estes factos vêm confirmar outras observações anteriores que sugeriam que são necessários níveis de PTH intacta superiores ao normal nos doentes com insuficiência renal crónica terminal para que haja uma remodelação óssea fisiológica.

O hiperparatiroidismo secundário com a sua consequente osteíte fibrosa cística permanece um problema clínico muito importante na população dos doentes em diálise. Fizeram-se grandes avanços na compreensão e tratamento desta patologia e as suas próprias manifestações clínicas têm igualmente mudado de forma significativa nas últimas três décadas. Antigamente, eram vulgares as queixas de dor ossea, de fraqueza muscular com miopatia e prurido, calcificações ectópicas acompanhadas frequentemente por rotura espontânea dos tendões, calcifilaxia e deformidades esqueléticas. Hoje em dia, estes sintomas e estas patologias são menos vulgares devido a um controlo mais precoce do hiperparatiroidismo secundário e pelas medidas preventivas implementadas durante o tratamento da insuficiência renal crónica. Contudo, um número significativo de doentes permanece incontrolado e apresenta exuberante sintomatologia clínica. O uso de calcitriol, $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ que é uma forma activa de vitamina D tem sido muito útil no tratamento do hiperparatiroidismo secundário mas o seu uso não é isento de considerável morbidade, e mesmo mortalidade. Daí os frequentes fracassos terapêuticos verificados. Os problemas mais comuns são a hipercalcemia, a hiperfosfatemia, o aumento do produto cálcio (Ca), fósforo (P) (Ca X P) com o desenvolvimento de calcificações ectópicas e a resistência das glândulas paratiroideias ao efeito supressor desejável do calcitriol. É do maior interesse científico e clínico o desenvolvimento e o estudo de novos derivados activos da vitamina D que apresentem o efeito hipercalcémico e hiperfosfatémico dissociado do efeito supressor da PTH, o que leva a uma menor toxicidade e a uma maior eficácia. Um destes compostos é a 1-alfa-

hidroxivitamina D₂ (1 α -(OH)D₂) (1 α D₂) que tem sido a matéria dos meus estudos e a essência desta tese.

A - Fisiopatologia da Osteodistrofia Renal

O hiperparatiroidismo secundário ocorre cedo no decurso da insuficiência renal crónica. A "osteíte fibrosa cística" é consequência do desenvolvimento do hiperparatiroidismo secundário. Crê-se que cedo na insuficiência renal o principal factor gerador de hiperparatiroidismo secundário é uma diminuição da síntese do calcitriol pelo rim doente. Devido à progressiva perda de células do nefrónio proximal que é o local da síntese da 1-alfa, 25-dihidroxitamina D₃ (1 α ,25-(OH)₂D₃). Esta síntese dá-se a partir da hidroxilação da 25-hidroxitamina D₃ pela enzima 1-alfa-hidroxilase. Além disso, a perda de nefrónios funcionantes origina uma retenção excessiva de fósforo que por si vai reduzir a actividade da 1-alfa-hidroxilase nas células tubulares restantes. Estes dois efeitos são responsáveis pelos baixos níveis séricos da 1 α ,25-(OH)₂D₃. Esta redução dos níveis séricos da 1 α ,25-(OH)₂D₃ causa uma secreção aumentada e excessiva de PTH, devido ao efeito directo e indirecto que tem nas glândulas paratiroideias.

Na verdade há um efeito inibitório directo da 1 α ,25-(OH)₂D₃ sobre a actividade secretora da glândula paratiroideia, devido à supressão do PTH-ARN mensageiro (Ácido Ribonucleico mensageiro da Hormona Paratiroideia) que é responsável pela síntese da PTH. Este facto está demonstrado em diversos estudos (7,8,9). E é por isso que a diminuição dos níveis séricos de 1 α ,25-(OH)₂D₃ aumenta a síntese de PTH. Este efeito directo sobre o genoma da célula paratiroideia, é mediado por um complexo receptor citoplasmático que após se ligar com a 1 α ,25-(OH)₂D₃ se desloca rapidamente para o núcleo celular. Este receptor da vitamina D (VDR) no homem é uma proteína com 427 ácidos aminados, dos quais os resíduos 25 a 112 constituem uma região de ligação ao ADN. Por outro lado a região de ligação á vitamina D ("ligand-binding") é aproximadamente constituída pelos resíduos 200 a

400. Este importante receptor pertence à grande família de receptores nucleares que inclui entre outros os receptores dos esteroides, das hormonas tiroideias e do ácido retinóico (10). A região de ligação do VDR ao ADN é característica e própria dos receptores nucleares e contém duas moléculas de zinco que medeiam a sua junção. Isso dá-se nas regiões de ADN onde se localizam os genes sensíveis à vitamina D (11). Esta região é promotora da sequência de ARNm (Ácido Ribonucleico mensageiro) e designa-se por “vitamin D responsive element” (VDRE). A junção do complexo, vitamina D-VDR com estas regiões do ADN - as VDRE - altera a transcrição do ADN levando à produção de moléculas precursoras específicas de PTH – ARNm (11,12).

O VDR encontra-se amplamente difundido em diferentes tecidos, incluindo os intestinos, as glândulas paratiroideias e as células da linha osteoblástica. Tanto os doentes urémicos como os animais com insuficiência renal crónica têm uma concentração celular reduzida de VDR e uma baixa afinidade do complexo vitamina D-VDR com o VDRE (13,14). Além disso, foi demonstrado que um aumento dos níveis séricos de $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ actua no sentido de aumentar os níveis de VDRs, enquanto que a diminuição nos níveis séricos desta vitamina vai permitir uma redução da quantidade dos VDRs (15). A menor concentração celular de VDRs ou o seu relativo bloqueio funcional tornam, por seu lado, a glândula paratiroideia menos sensível à acção inibidora da vitamina D. Por outro lado, baixos níveis séricos de $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, ao diminuírem a absorção intestinal de cálcio causam uma hipocalcemia. A hipocalcemia estimula a secreção de PTH, consubstanciando-se assim um efeito indirecto deste derivado activo da vitamina D sobre as glândulas paratiroideias.

Experiências diversas demonstraram uma correlação inversa entre as concentrações de cálcio ionizado extracelular e a secreção de PTH (16,17). O mecanismo desta regulação foi esclarecido desde que Brown et al (18) conseguiram isolar o receptor do cálcio localizado na membrana da célula paratiroideia bovina. As células paratiroideias através deste receptor dispõem dum mecanismo sensor

para o cálcio extracelular, e não só. Na verdade tais receptores são também sensíveis aos níveis séricos doutros catiões divalentes (tal como o magnésio), e mesmo de catiões trivalentes e polivalentes (tais como a neomicina). A regulação da secreção de PTH feita por este receptor do cálcio realiza-se por meio de mudanças na interacção do fosfoinosítido e do cálcio citosólico. Uma redução em cálcio ionizado sérico, reconhecida pelo receptor de cálcio, causa uma libertação de PTH. Pelo contrário, um aumento em cálcio extracelular, reconhecido também pelo mesmo receptor de cálcio, mobiliza as reservas de cálcio celulares, aumentando a concentração citoplasmática de cálcio livre, e inibindo a secreção de PTH.

Nos doentes com insuficiência renal crónica em hemodiálise estão demonstrados níveis reduzidos de receptores de cálcio nas glândulas paratiroideias (19,20). Isto poderá explicar a resposta anormal das células paratiroideias dos doentes com insuficiência renal aos níveis do cálcio sérico (21). Assim a redução da quantidade de receptor de cálcio pode obviamente desempenhar o seu papel na elevação da secreção de PTH e na hiperplasia das glândulas paratiroideias observada nestes doentes.

O fósforo, por seu lado, tem também um importante papel fisiopatológico no desenvolvimento do hiperparatiroidismo secundário nos doentes com insuficiência renal. Existe um efeito directo do fósforo sobre as glândulas paratiroideias (22,23). A administração de uma dieta com baixo teor em fósforo a doentes com insuficiência renal crónica avançada induz uma diminuição dos níveis séricos de PTH, sem existir qualquer alteração dos níveis séricos de cálcio ionizado e calcitriol (22). Estas descobertas sugeriram um efeito de uma dieta de baixo teor em fósforo no controlo da secreção de PTH. Mais recentemente, estudos, tanto *in vitro* como *in vivo*, demonstraram um efeito directamente estimulador do fósforo sobre a secreção de PTH e na proliferação das células paratiroideias (24,25). O efeito da hiperfosfatemia sobre as glândulas paratiroideias reveste-se de importância clínica não só devido aos efeitos directos atrás referidos sobre a glândula paratiroideia mas também porque induz um

estado de resistência da própria glândula paratiroideia ao calcitriol, o que lhe retira o benefício terapêutico.

B - Resumo Histórico sobre o Uso de Calcitriol

Virchow foi quem primeiro verificou, em meados do século dezanove, a associação entre insuficiência renal e doença óssea (26). Nos finais do século dezanove, Lucas descreveu o "raquitismo renal" e observou que o óleo de peixe era útil para o seu tratamento (27). A vitamina D inactiva existente no óleo de peixe foi usada para tratar o raquitismo renal antes de ter sido usada para outras situações hoje mais indicadas. Em 1927, Parsons demonstrou que a deficiência dietética em vitamina D não era a causa das alterações raquíticas nas crianças urémicas e que o óleo de peixe, de facto, não era muito útil nestas situações (28). A associação entre insuficiência renal crónica e hiperparatiroidismo, e também a doença óssea, foi reconhecida por numerosos autores em meados dos anos 50. Albright associou a presença da doença óssea urémica com a hipertrofia das glândulas paratiroideias recolhidas nas autópsia (29) e Gilmour efectivamente correlacionou a gravidade da osteíte fibrosa com a massa da glândula paratiroideia (30). Mais tarde, foi observada a resolução das calcificações metastáticas e também a melhoria radiológica e histológica da doença óssea urémica após paratiroidectomia (31).

Nos primeiros anos da diálise, pareceu, como já se disse, havia dois tipos principais de doença óssea renal: 1) uma forma típica hiperparatiroide com fibrose peritrabecular, hiper celularidade de osteoclastos e osteoblastos, e elevada remodelação óssea; e 2) um padrão osteomalácico dominado pelo excesso de osteoide desmineralizado e baixa remodelação óssea (1). Um terceiro tipo intermédio, menos vulgar, de doença óssea, designado por osteodistrofia "mista" tinha características tanto de osteomalacia como da osteíte fibrosa.

A osteíte fibrosa relacionada com o hiperparatiroidismo secundário era a lesão mais

frequentemente observada nesse tempo. Nessa altura foi também observada a persistência de hiperparatiroidismo grave apesar de ter surgido a capacidade de quelar o fósforo alimentar com hidróxido de alumínio o que impedia a sua absorção intestinal. Diversos autores descreveram o tratamento destes indivíduos com osteíte fibrosa pela paratiroidectomia, e muitas vezes mesmo pela paratiroidectomia total. Apesar de a doença óssea hiperparatiroide se correlacionar com o grau de hipertrofia das glândulas paratiroideias e ter sido observada a resposta positiva desta doença ossea à realização da paratiroidectomia, as suas causas permaneceram um mistério durante vários anos. Em 1969, Slatopolsky e Bricker propuseram uma explicação para o hiperparatiroidismo secundário observado na insuficiência renal. A "trade-off hypothesis" propunha que o hiperparatiroidismo era uma consequência inevitável da retenção de fósforo (32,33). Com a diminuição da taxa de filtração glomerular e a diminuição da excreção de fósforo existe uma subida da concentração sérica de fósforo. A hiperfosfatemia resulta em hipocalcemia e hiperparatiroidismo compensador numa tentativa de normalizar os níveis séricos de cálcio. Este hiperparatiroidismo aumenta também a excreção fraccional de fosfato a nível renal. A essência da "trade-off hypothesis" era que a homeostase do cálcio e do fósforo era mantida à custa de um hiperparatiroidismo secundário. Os princípios fundamentais desta teoria ainda hoje continuam a ser verdadeiros.

Em finais dos anos 60, a presença de osteomalácia em alguns doentes, em vez da osteíte fibrosa de causa hiperparatiroideia, veio sugerir a possibilidade de existir uma deficiência, ou resistência à vitamina D. Tentou-se tratar estes doentes com Vitamina D, mas o êxito foi limitado, confirmando-se assim uma resistência a esta hormona em doentes urémicos (34).

Em 1971, não muito depois de ter sido apresentada a hipótese do "trade-off", foi descoberto que o calcitriol era o metabolito activo definitivo e fisiológico da vitamina D, e que a sua síntese final tinha lugar no rim (35). Muitos investigadores desta área anteciparam que o metabolito da vitamina D

recentemente descoberto iria provar ser a resposta à osteomalácia em doentes sujeitos a hemodiálise. Infelizmente, não foi isso o que aconteceu. Além de não responderem á terapêutica com calcitriol, muitos doentes aumentaram os sintomas de dores ósseas e as suas características histológicas em geral não se modificaram. Por isso, a osteomalácia urémica não era dependente duma deficiência da forma activa da vitamina D. Só anos mais tarde é que o alumínio foi incriminado como sendo o causador da osteomalácia e foi observada a resolução desta lesão em doentes tratados pela remoção do alumínio do organismo. Como se disse, nos estudos preliminares utilizando calcitriol, entre os doentes que foram seleccionados a maioria tinha lesão osteomalácica, mas alguns tinham a doença óssea hiperparatiroide. Aconteceu que neste último grupo de indivíduos, se observaram espantosas melhorias sintomáticas e histológicas (36). O mecanismo pelo qual o calcitriol melhorou o hiperparatiroidismo não ficou claro. A maioria dos autores achou que foi secundário ao efeito do calcitriol sobre o metabolismo do cálcio, fazendo subir os níveis de cálcio e inibindo, por essa razão, a secreção de PTH. Em 1984, Slatopolsky demonstrou a inibição de níveis séricos de PTH com calcitriol intravenoso (37) e um ano mais tarde demonstrou-se que o calcitriol inibia a transcrição dos genes da hormona paratiroide (7), que, como já se disse atrás, o seu mecanismo de acção está hoje bastante esclarecido.

C - Conceitos actuais no uso de calcitriol para o tratamento da osteodistrofia renal

(Adaptado de Coburn JW e Frazao JM. *Seminars in Dialysis* 1996 (38)).

1 -Introdução

A descoberta de que o calcitriol e outros esteroides activos da vitamina D podem actuar directamente sobre as glândulas paratiroideias para reduzirem a síntese de PTH teve um grande impacto no uso destas substancias em doentes com insuficiência renal crónica terminal. É sabido que o calcitriol pode reduzir a secreção de PTH indirectamente, aumentando níveis séricos de cálcio através da estimulação da absorção intestinal de cálcio. Mas há também o efeito directo do calcitriol sobre as células paratiroideias. Aqui por meio da sua acção sobre o receptor de vitamina D a que se liga o calcitriol inibe o passo inicial para a síntese de PTH que é a síntese do mRNA específico. Tem havido um interesse substancial pela terapia com calcitriol em doentes com insuficiência renal crónica e hiperparatiroidismo secundário; a presente discussão é uma revisão da experiência passada e das actuais recomendações sobre o uso de calcitriol com base numa grande amostra de dados referidos na literatura e na experiência com o seu uso desde 1971 (39), e na minha experiência própria.

Um importante efeito secundário do tratamento com calcitriol é o aumento da absorção intestinal de fósforo, um efeito que é quantitativamente menor do que o seu efeito na absorção de cálcio (40). Quando os rins funcionam normalmente, excretam prontamente os excessos de cálcio e fósforo que são absorvidos. Nos doentes com insuficiência renal crónica em que se administra o calcitriol, a absorção aumentada de cálcio e fósforo produz muitas vezes hipercalcemia e agrava a hiperfosfatemia que sempre tende a existir em tais doentes.

O "ideal" para estes doentes seria o tratamento com a vitamina D, ou um seu derivado de

forma a acentuar a sua acção sobre as glândulas paratiroideias, minimizando simultaneamente a sua estimulação da absorção intestinal de cálcio e fósforo. Foi descrito na literatura que a administração do calcitriol por via intravenosa, em doses de 0,5 ug a 4,0 ug, e dado de uma só vez durante a hemodiálise, duas ou três vezes por semana, pode reduzir imensamente os níveis séricos de PTH, tendo simultaneamente efeitos mínimos sobre a absorção de Ca e P (37). Estas observações sugeriram que a acção do calcitriol intravenoso segundo este esquema de administração, era maior sobre as paratiroides do que a nível intestinal. Os efeitos do calcitriol intravenoso sobre os níveis séricos de PTH foram confirmados (41,42). Entretanto foi sugerido que este uso do calcitriol por via intravenosa poderia ter grandes vantagens sobre a terapia oral diária. A administração oral de calcitriol a longo prazo, em doses acima de 0,25 a 0,50 ug/dia, nunca foi possível sem o desenvolvimento de hipercalcemia (43,44,45).

Após os resultados iniciais do uso do calcitriol intravenoso terem sido publicados, vários estudos referiram reduções substanciais dos níveis séricos de PTH na sequência de uma terapia oral, utilizando doses de calcitriol de 2,0 a 4,0 ug ingeridos numa vez só, duas ou três vezes por semana (46,47,48,49,50,51,52). Alguns investigadores que se referem a este último esquema terapêutico com o calcitriol seleccionaram doentes com hiperparatiroidismo grave (41,51,53,54), e outros incluíram doentes em que não tinha havido êxito com a terapia oral diária (41,49,55). A maioria dos investigadores escolheu doentes com base num determinado grau de aumento dos níveis PTH intacta. Em algumas publicações, o grau do hiperparatiroidismo era bastante ligeiro (37,56,57). Simultaneamente também foi demonstrado que 1α -Hidroxivitamina D₃ administrado por via intravenosa de forma intermitente era eficaz para baixar os níveis séricos de PTH em doentes com insuficiência renal crónica terminal (58,59); esta discussão faz uma revisão que se limita ao uso de calcitriol.

2 - Carbonato de cálcio e/ou acetato de cálcio como quelantes do fósforo: Efeito sobre o metabolismo do cálcio, sobre a função paratiroideia e sobre o uso de calcitriol.

É pertinente fazer breves considerações sobre outros desenvolvimentos que mudaram os tipos de doenças ósseas observadas em doentes com insuficiência renal crónica (5,60); O controlo da hiperfosfatemia reveste-se de importância crucial no controlo do hiperparatiroidismo secundário nestes doentes, tendo os sais de cálcio, o carbonato de cálcio e o acetato de cálcio, substituído grandemente ou por completo os quelantes de cálcio com teor de alumínio. Esta alteração e o uso de dialisante que é praticamente "isento" de alumínio (p.ex., concentração de alumínio, < 5 ug/l) originaram o virtual desaparecimento da doença óssea relacionada com o alumínio (5). As quantidades grandemente aumentadas de cálcio ingeridas como quelantes de fósforo associadas ao uso de concentrações de cálcio do dialisante de 3,0 a 3,5 mEq/l, aumentam os níveis séricos de Ca ionizado acima do normal (61), originando uma supressão variável dos níveis de PTH em muitos doentes, mesmo não recebendo tratamento com qualquer derivado da vitamina D (5,62). Esta prática clínica nas hemodiálises será eventualmente um dos factores responsáveis pelo osso "aplástico" ou "adinâmico", uma "nova" doença assintomática que se caracteriza por uma baixa remodelação óssea, na ausência de alumínio o que é verificável por colorações específicas. Esta entidade é identificada hoje em dia com frequência nas biópsias ósseas realizadas em doentes com insuficiência renal crónica terminal (5,62). Há considerável evidência de que esta condição representa supressão exagerada das glândulas paratiroideias (62). Uma conclusão importante a tirar-se destas observações é que nem todos os doentes em hemodiálise requerem tratamento com um derivado activo da vitamina D como é o caso dos doentes com osso "aplástico".

3 - Selecção de Doentes com insuficiência renal crónica terminal para Terapia com Calcitriol.

Quem é que deve ser tratado? Será possível identificar os doentes com doença óssea significativa causada pelo hiperparatiroidismo? O uso dos ensaios imunoradiométricos ou químicoluminiscentes para a detecção da molécula completa da hormona paratiroideia, 1-84 PTH, a PTH-intacta, vieram proporcionar melhor reproducibilidade e precisão na medição dos níveis de PTH (63,64) em contraste com os ensaios anteriormente usados que mediam fragmentos da PTH. Três estudos (5,65,66) que utilizaram este tipo de ensaios para a PTH intacta em conjunto com biópsias ósseas realizadas em populações de dimensões razoáveis e bem definidas de doentes com insuficiência renal crónica terminal produziram resultados impressionantemente semelhantes. Esses resultados indicam que o nível de PTH intacta tem de ser 2,5 a 3 vezes acima do limite superior do normal antes de serem observadas alterações esqueléticas características do hiperparatiroidismo nestes doentes e indicam que os níveis devem ser 5 a 7 vezes acima do limite superior do normal antes de se verificar uma osteíte fibrosa significativa em todos os doentes. Além disso, os doentes com níveis de PTH intacta que oscilam entre níveis normais e 1,5 vezes o normal têm com muita frequência osso "adinâmico" ou "aplástico". Assim, há uma resistência á acção da PTH sobre o osso, e o nível sérico de PTH intacta só por si sobrestima substancialmente o grau do hiperparatiroidismo secundário comparativamente às lesões presentes em doentes com insuficiência renal crónica terminal. A magnitude do hiperparatiroidismo secundário pré-existente deve ser tida em consideração na interpretação de estudos clínicos que avaliam o efeito da terapia com Vitamina D. Na verdade, o primeiro estudo na literatura que avaliou o uso de calcitriol intravenoso, em dose única, utilizando um ensaio de PTH específico para a região média dos fragmentos carboxílicos da PTH, incluiu muitos doentes com hiperparatiroidismo ligeiro e outros com níveis de PTH suficientemente baixos (37) para garantirem uma situação de baixa remodelação óssea.

Entre os doentes com níveis normais de cálcio no soro e características histológicas do osso compatíveis com hiperparatiroidismo secundário, houve uma correlação significativa entre os níveis de PTH intacta e a gravidade da osteíte fibrosa bem como com a existência de sintomas (67). Assim, o nível de PTH intacta num doente com insuficiência renal crónica terminal pode orientar para a necessidade de se iniciar a terapia com calcitriol. Níveis de PTH intacta inferiores a 100 pg/ml (normal, 10 - 65 pg/ml) sugerem osso "aplástico", valores de 100 a 250 pg/ml muito frequentemente indicam remodelação óssea "normal"; a lesão hiperparatiroide, a osteíte fibrosa, está ausente excepto se o nível de PTH exceder 200 pg/ml. Em doentes com insuficiência renal crónica terminal com níveis séricos de PTH intacta inferiores a 200 pg/ml não há necessidade de se fazer terapia com calcitriol. Nos doentes com níveis séricos de PTH intacta que indicam hiperparatiroidismo, também pode ser avaliada a gravidade do problema. Os doentes com hiperparatiroidismo ligeiro têm vulgarmente níveis de PTH intacta de 200 a 400 pg/ml; hiperparatiroidismo moderado, 300 a 800 pg/ml; e aqueles com hiperparatiroidismo grave, os níveis de PTH intacta são superiores a 700 pg/ml (67).

4 - Diferenças entre a terapêutica contínua e a intermitente com calcitriol.

Há que se considerar as diferenças entre uma terapêutica oral diária e a terapêutica intravenosa intermitente assim como possíveis diferenças entre o tratamento por via oral e por via intravenosa quando o horário de administração e as doses usadas são as mesmas. Uma diferença entre a terapêutica intermitente e a contínua são os níveis séricos mais elevados de calcitriol produzidos após a administração de dose em bolus. Numa comparação feita entre a infusão contínua de calcitriol e a terapêutica intravenosa de uma dose individualizada cada 72 horas em dois grupos de ratos "urémicas" e cuja dose total de calcitriol através das duas formas de administração foi a mesma,

concluiu-se o seguinte: 1) Houve uma área da curva de tempo mais baixa para os níveis plasmáticos de calcitriol durante o tratamento intermitente em relação à infusão contínua; 2) As alterações foram semelhantes nos níveis séricos de cálcio e de fósforo nos dois esquemas terapêuticos; 3) A administração intermitente produziu níveis mais baixos de PTH no soro, menores pesos das glândulas paratiroideias, e menor "mRNA para pre-Pro PTH" do que os observados com a infusão contínua de calcitriol (68). Estes resultados experimentais apontam para um maior efeito sobre as glândulas paratiroideias do tratamento com calcitriol administrado intermitentemente, em doses intravenosas individualizadas, em comparação com o tratamento endovenoso contínuo.

Por outro lado, no único ensaio bem controlado cientificamente, procedeu-se à comparação dos efeitos de dois regimes terapêuticos diferentes, ambos por via oral. Neste estudo clínico que durou 12 semanas, Herrmann et al (56) em 45 doentes com insuficiência renal crónica terminal, com níveis de PTH intacta superiores a 200 pg/ml separaram-nos em dois grupos compostos de forma randomizada: Grupo 1): com administração de calcitriol oral, 0,75 ug uma só vez por dia; Grupo 2): administração de calcitriol numa dose semanal de 5.25 ug mas dividida em duas tomas, cada uma em seu dia. O objectivo do tratamento seleccionado, que era a supressão da PTH intacta para níveis abaixo de 100 pg/ml, foi atingido em iguais percentagens de doentes nos dois esquemas de tratamento; também foram frequentes os episódios de hipercalcemia e particularmente de hiperfosfatemia, mas em percentagens não significativamente diferentes entre os dois grupos. O grau do hiperparatiroidismo na maioria dos doentes deste estudo foi de ligeiro a moderado pois só cinco doentes tinham hiperparatiroidismo "grave", avaliado por um nível sérico de PTH intacta superior a 700 pg/ml, sendo um do grupo que recebia tratamento diário e quatro do grupo dos que apenas tomavam as duas doses por semana.

A experiência em estudos prospectivos com grande número de doentes (44,45,69) com

tratamento diário com calcitriol com uma duração até 30 meses revelou que a dose diária de calcitriol raramente consegue exceder 0,25 a 0,5 ug/dia sem causar hipercalcemia. Alguns doentes com hiperparatiroidismo de moderado a grave são tratados eficazmente com doses diárias de 0,50 a 0,75 ug/dia (70,71); nestes casos a hipercalcemia torna-se muito provável quando os níveis séricos de PTH baixam e se começam a aproximar do normal. Como vai ser apresentado adiante uma supressão eficaz das glândulas paratiroideias poderá ser conseguida com a dose diária "crítica" de calcitriol próxima dos 0,75 ug, seguindo Herrmann et al (56).

5 - Comparação do tratamento com calcitriol intermitente por via oral com o tratamento intermitente por via intravenosa.

Há importantes diferenças entre o tratamento com calcitriol por via oral intermitente comparado com a administração intermitente por via intravenosa. Uma dessas diferenças relaciona-se com os níveis sanguíneos atingidos; a outra diferença com um efeito decorrente da cinética da absorção intestinal do calcitriol ingerido por via oral. A concentração sérica de calcitriol é imediatamente mais alta depois da administração intravenosa que com a administração oral. No entanto, esta diferença inicial desaparece após 1 a 3 horas. Daí para diante verifica-se que os níveis séricos permanecem aumentados de forma semelhante durante as 24 ou 48 horas seguintes em ambas as formas de administração.

Num outro estudo realizado em doentes adolescentes com insuficiência renal crónica terminal durante 24 horas, os níveis de calcitriol foram mais altos depois da terapêutica intravenosa do que com a terapia oral (72).

Porém, um outro estudo realizado em doentes adultos durante 48 horas não se verificou qualquer diferença nos níveis séricos do calcitriol entre os esquemas da terapia oral comparado com a

terapia intravenosa (73). Estas observações sugerem que o calcitriol oral é muito bem absorvido através da mucosa intestinal entrando na circulação sem praticamente haver qualquer perda. Não há dados disponíveis que comparem os efeitos do calcitriol oral com o calcitriol intravenoso na absorção intestinal do cálcio ou do fósforo.

6 - Resultados dos estudos a longo prazo da terapêutica com o calcitriol por via intravenosa intermitente e por via oral intermitente:

Alguns estudos prospectivos mas sem os necessários controlos avaliaram o tratamento com calcitriol intravenoso intermitente durante pelo menos 4 meses. Andress et al (41), usando biópsias ósseas sucessivas, provaram uma acentuada melhoria da osteite fibrosa em doentes com hiperparatiroidismo secundário grave após 12 a 15 meses de terapêutica com o calcitriol em doses de 2,5 ug a 5 ug, duas a três vezes por semana. A melhoria óssea chegou mesmo a observar-se em doentes cujos níveis de PTH eram acentuadamente elevados após o tratamento. Um doente desenvolveu características de doença óssea alumínica quando os níveis de PTH baixaram, indicando o risco da intoxicação alumínica que representa a ingestão de bloqueadores da absorção do fósforo que sejam sais de alumínio quando usados em doentes tratados com o calcitriol administrado intermitentemente por via intravenosa.

Noutros estudos, as doses de calcitriol administradas variaram substancialmente, usando uns doses inferiores a 1,0 ug de calcitriol endovenoso em cada tratamento de hemodiálise (74), e outros doses de 5 ug por hemodiálise (41,54,75).

Em vários estudos (41,46,49,50,55), o tratamento com o calcitriol por via intravenosa intermitente foi utilizado em doentes que tinham sido refractários à administração oral diária convencional, doentes esses em que haviam subido os níveis de PTH ou em que se desenvolveu uma

hipercalcemia durante a administração do calcitriol oral. Foi também o caso de Malberti et al (55) que trataram 10 doentes com insuficiência renal crónica terminal e que tinham tido anteriormente um aumento progressivo da PTH intacta durante o tratamento com calcitriol oral diário nas doses de 0,125 a 0,5 ug/dia e apesar dum bom controlo dos níveis séricos do fósforo e do cálcio. A dose inicial de calcitriol intravenoso foi de 2,0 ug por diálise, diminuindo a dose quando os níveis de cálcio sérico ionizado excediam 1,4 mM/l e a hipercalcemia não resolvia após a diminuição do cálcio no dialisante, e se fazia a substituição do carbonato de cálcio por acetato de cálcio. Os valores séricos médios de PTH intacta que antes do tratamento de 1070 pg/ml, baixaram para 353 pg/ml, ou seja, houve uma redução de 67% (distribuição, 45-91%) após 4 meses de tratamento. A dose média de calcitriol usada foi de $5,6 \pm 0,8$ ug por semana no primeiro mês e de $3,6 \pm 1,3$ ug por semana no final do estudo, no 4º mês.

Vários outros estudos avaliaram prospectivamente em doentes com insuficiência renal crónica terminal o uso de calcitriol oral intermitente com as doses variando entre de 0,5 a 5,0 ug, e administrados duas vezes por semana (46,48,49,50,52). A duração do tratamento variou entre 2 e 6 meses. Em alguns estudos, os doentes escolhidos não tinham conseguido o controlo de níveis séricos de PTH com a ingestão diária do calcitriol (46,48,49,50); houve, porem, reduções substanciais dos níveis da PTH sérica em todos os estudos.

Van de Merwe et al (46) trataram doentes em hemodiálise com hiperparatiroidismo secundário grave com calcitriol oral diário ou oral intermitente em bolus; reduziram o Ca do dialisante para 1,0 mM/l conseguindo evitar a hipercalcemia. Além disso, usaram doses diárias de calcitriol de 2,0 ug/dia no grupo convencional com administração diária e 2,5 ug por diálise no grupo de submetido a tratamento intermitente. Deu-se uma substancial supressão de PTH em ambos os grupos. Estas últimas observações vêm realçar a capacidade de se administrar com segurança doses maiores de

calcitriol quando se reduz o nível de calcio no dialisante. Neste estudo verificou-se a capacidade de se suprimir os níveis altos de PTH com uma terapêutica oral e intermitente e que pareceu equivalente aos resultados obtidos e publicados usando calcitriol intravenoso também intermitentemente.

Depois do que já foi por nós referido, é importante a apresentação global, de forma sistematizada e com base nos estudos mais significativos (Quadro I – 1) dos efeitos comparativos do uso do calcitriol administrado por via oral, de forma intermitente, não diária com a via intravenosa, intermitente como anteriormente definida. Cinco grupos de investigadores são analisados: um é um estudo cruzado (76) e os outros são estudos de populações (73,77,78,79) sendo dois publicados na forma de resumos (78,79).

1) O estudo cruzado foi realizado em 10 doentes com um hiperparatiroidismo ligeiro a moderado (76) tendo metade deles recebido calcitriol intravenoso e a outra metade calcitriol oral. Após 4 meses, houve uma troca ou cruzamento dos esquemas terapêuticos de um grupo para o outro. Em ambos os esquemas adoptados, a PTH intacta sérica baixou significativamente. Foram frequentes os episódios de hipercalcemia que não foram estatisticamente diferentes nas duas modalidades; 11 episódios em 8 doentes durante a administração intravenosa e 10 episódios em 7 doentes durante a administração oral. Também não houve diferenças estatisticamente significativas nos níveis séricos de fósforo entre as duas modalidades de tratamento.

2) Os estudos da população em doentes foi feita em dois grupos criados de forma randomizada: um grupo em que o calcitriol foi administrado via oral e outro em que a administração foi feita por via parenteral. Um estudo (79) comparou o calcitriol administrado por via oral com a sua administração por via peritoneal em crianças com insuficiência renal crónica e tratadas em Diálise Peritoneal Crónica Ambulatória (DPCA). Também aqui não houve diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos quer relativamente à redução no soro da PTH intacta ou à

incidência da hipercalcemia ou da hiperfosfatemia. Na verdade, os níveis séricos de PTH intacta baixaram significativamente ao fim de 8 meses, e as biópsias ósseas feitas mais tarde, revelaram uma significativa melhoria na maioria destes mesmos doentes após 12 meses de tratamento. É importante realçar que esta melhoria das biópsias ósseas ocorreu apesar dos níveis de PTH intacta ao fim de 12 meses terem regressado a um nível médio não diferente do valor basal antes do tratamento. Estas observações sugerem que o calcitriol poderá ter efeitos directos sobre o osso, independentemente das alterações que produz nos níveis séricos de PTH.

Os outros três estudos analisados (Quadro I - 1) compararam o calcitriol intermitente administrado quer por via oral quer por via intravenosa em doentes adultos com insuficiência renal crónica terminal (73,77,78). Aqui a conclusão destes estudos foi não referir qualquer vantagem, de uma forma terapêutica em relação à outra. Um dos estudos referiu a melhoria da biópsia óssea e os níveis de PTH também baixaram: 62% no grupo do tratamento oral e em 77% no grupo do tratamento intravenoso o que não é significativamente diferente, como provaram. No entanto, aumentos dos níveis séricos de cálcio e do produto do cálcio X fósforo levaram à suspensão da terapêutica ou a uma redução da dose numa elevada percentagem de doentes. Acrescente-se que apesar das reduções da PTH intacta, um dos estudos (77) avaliou o tamanho das glândulas paratiroideias sem encontrar qualquer redução no seu tamanho medido quer pelo recurso à ressonância magnética ou pelo uso da ecografia. No estudo (78) realizado com biópsias ósseas após o tratamento, alguns doentes desenvolveram uma situação de baixa remodelação óssea, em alguns casos mesmo osso adinâmico, apesar dos níveis de PTH que não terem sido suprimidos para níveis abaixo do normal, e este facto é da maior importância.

Levine e Song (73), o último dos estudos em análise, compararam a farmacocinética do calcitriol em 16 doentes sujeitos a hemodiálise estudando ambas as vias de administração

intermitente, oral e intravenosa. Concluíram que não houve diferenças estatisticamente significativas na percentagem de supressão dos níveis séricos de PTH induzidas, nem na incidência de hipercalcemia ou de hiperfosfatemia. Houve, como já referido, um pico de concentração do calcitriol mais alto após 30 minutos da administração intravenosa, em relação ao atingido após a administração oral, mas ao fim de uma hora após a administração, por qualquer das vias, os níveis de calcitriol não eram diferentes nos dois grupos. Os autores concluíram que a diferença nos níveis dos picos de calcitriol atingidos com as duas vias de administração não conduziu a qualquer diferença clinicamente aparente.

Em conclusão: os dados obtidos a partir destas comparações revelam diferenças pouco significativas, se algumas sequer, na terapêutica pelo calcitriol quer quando intermitentemente usada a via oral ou a via intravenosa. O número de doentes com hiperparatiroidismo grave (níveis séricos de PTH intacta > 2000 pg/ml) foi pequeno e é certamente possível que a forma de administração intravenosa possa ser mais eficaz em alguns destes doentes, mas disso não temos comprovação.

7 - Variabilidade das respostas terapêuticas e a razão para a resistência á terapêutica:

Os estudos referidos (Quadro I – 1) sugerem que vários factores podem evitar uma resposta favorável ao tratamento com calcitriol. Estes factores incluem um controlo inadequado dos níveis séricos do fósforo (77,80,81), a concentração do cálcio no dialisante (46,82), o uso de bloqueadores da absorção do fósforo intestinal livre sem alumínio (57,80), e a dosagem do calcitriol utilizada (74,83). Além disso, há alterações específicas ao nível das próprias glândulas paratiroideias, que podem afectar a resposta terapêutica, como discutiremos adiante. Analizemos sucessivamente agora alguns destes factores:

a) A hiperfosfatemia é um problema complexo nos doentes com insuficiência renal crónica

terminal (84), e o seu tratamento implica 1) Uma restrição dietética adequada dos alimentos com alto teor de fósforo, 2) a ingestão de doses apropriadas e ingeridas no devido tempo de agentes bloqueadores do fósforo livre no intestino e, 3), métodos dialíticos eficazes para a remoção do fósforo do organismo. A ausência da devida atenção a *qualquer* uma destas medidas terapêuticas num doente com insuficiência renal crónica pode dar origem a um grave aumento do fósforo no soro. A hiperfosfatemia também pode ser agravada pelo próprio tratamento com calcitriol, embora o seu efeito no aumento da absorção do fósforo possa ser relativamente pequeno (40). Alguns estudos, incluindo os de Sprague e Moe (83), Rodriguez et al (81), Mohini et al (80), e Quarles et al (77), documentam a observação de que a hiperfosfatemia é um factor de primordial importância nestes doentes, e que origina o insucesso terapêutico. Pode mesmo impedir a supressão de PTH pelo tratamento intermitente do calcitriol. Assim, reveste-se de grande importância a cuidada atenção ao controlo dos níveis séricos do fósforo em doentes tratados com calcitriol.

b) A concentração do cálcio no banho de diálise: Este factor pode limitar a capacidade de se administrar em "grandes" doses de calcitriol. O uso dum concentração "padrão " de cálcio no dialisante na ordem dos 3,5 mEq/l (7.0 mg/dl), resulta em hipercalcemia no fim da diálise e gera e um equilíbrio positivo do cálcio orgânico (61). Mas com o uso de dialisante com cálcio de 2,5 mEq/l no banho de diálise, os níveis de cálcio pós-diálise são geralmente normais e reconhece-se que há pouca transferência de cálcio para o doente ou do doente para o dialisante, excepto se o doente tiver uma hipocalcemia ou uma hipercalcemia. Com a absorção de cálcio aumentada durante o tratamento com calcitriol, pareceria lógico que o uso de níveis mais baixos de cálcio no dialisante iriam permitir o uso de doses mais elevadas de vitamina D. Nos estudos que utilizaram calcitriol intermitente, houve a utilização de várias concentrações de cálcio no banho de diálise. Alguns desses estudos (46,82) confirmaram que banhos com cálcio inferior a 2,5 mEq/l, a quase totalidade com o cálcio na ordem

dos 2.0 mEq/l, e uma vez um cálcio de valor zero no dialisante em DPCA, permitiram o uso de grandes doses de calcitriol e a efectiva supressão de níveis de PTH. Por outro lado, alguns investigadores usaram concentrações de cálcio de 3,5 mEq/L no banho de diálise durante toda a experiência (56,74,80,85), e nestas condições um número substancial dos doentes nestes estudos desenvolveram hipercalcemia e tiveram que suspender a administração do calcitriol, embora tenha havido uma excepção, a de Goodman et al (85) em doentes pediátricos. Outros investigadores usaram inicialmente nos banhos uma concentração de cálcio de 3,5 mEq/l e depois baixaram essa concentração para valores entre 3,0 e 2,0 mEq/L quando os níveis séricos de cálcio subiram durante o tratamento com calcitriol (53,57,83,86). Houve ainda outros investigadores que utilizaram dialisantes com concentrações de cálcio de 3.2 a 2,5 mEq/L ao longo de todas as suas experiências com calcitriol (50,73,77,81). Em dois destes estudos (83,81) em que foram usados dialisantes com cálcio de 2.5 mEq/l durante toda a experiência, houve uma alta percentagem de doentes com supressão adequada da PTH.

O uso de sais de cálcio como bloqueadores do fósforo livre no intestino, em vez dos compostos de hidróxido de alumínio em doentes com insuficiência renal crónica terminal levou á recomendação de reduzir a concentração de cálcio no dialisante para 2,5 mEq/l excepto em doentes com hipocalcemia. Esta orientação é ainda mais importante em doentes que são tratados com calcitriol. Devido à frequência de hipercalcemia surgida, Gonella et al (86) referiram que era muito difícil associar uma terapêutica com calcitriol ao uso do carbonato de cálcio nas doses necessárias para uma adequada frenação na absorção intestinal do fósforo (87). É legítimo que se levante a questão de saber, e que pensar, se esses doentes receberem quelantes do fósforo com hidróxido de alumínio durante um curto período de tempo: sou da opinião de que o uso de sais de alumínio não deve ser recomendado devido ao risco acrescido de toxicidade pelo alumínio e pela confusão que isto

produzirá no espírito dos doentes; tudo isto na base da nossa própria experiência clínica. Penso, por isso que, usando o dialisante com 2,5 mEq/l de cálcio, e em casos seleccionados baixando-o mesmo para 2,0 mEq/l, seja a atitude clínica mais prudente, por nestas condições permitir o uso de doses adequadas dos sais de cálcio como queladores do fósforo juntamente com o recurso ao calcitriol. De mencionar que o cálcio do dialisante utilizado durante a terapêutica com calcitriol por Gonella et al foi de 3,0 mEq/l (53). Foram utilizadas doses muito diferentes de calcitriol. Nos vários estudos referentes ao uso de calcitriol, alguns investigadores modificaram as suas doses quando os níveis séricos de cálcio, ou quando o produto dos níveis séricos cálcio X fósforo, subiram acima de valores classicamente reconhecidos como perigosos. Num estudo multicêntrico, Gallieni et al [[1569]] administraram calcitriol, 0,015 ug/Kg/peso corporal (1,0 ug para um doente com 70 Kg), três vezes por semana; a dose foi parada quando o cálcio sérico excedeu 11,0 mg/dl ou quando o produto do cálcio X fósforo sérico foi superior a 60. A reintrodução do fármaco com metade da dose anterior era feita após a baixa dos níveis de cálcio ou do produto cálcio X fósforo. Uma análise retrospectiva revelou que os doentes que apresentavam uma resposta favorável com a redução dos níveis séricos de PTH intacta (76% do grupo total) tinham recebido doses maiores de calcitriol do que aqueles que não apresentaram resposta favorável; sugerindo assim que uma dose inferior a 0,75 ug por tratamento era provavelmente inadequada. No estudo de Sprague e Moe (53), a dose inicial de 0,50 ug/diálise foi aumentada 0,25 ug por diálise de 3 meses em 3 meses excepto se os níveis séricos de PTH do soro descessem 50% ou mais; a dose foi reduzida 0,25 ug/diálise se surgisse hipercalcemia ou hiperfosfatemia. Por outro lado, as doses necessárias de calcitriol para suprimir a PTH nos doentes com hiperparatiroidismo grave foram em média de 1,5 ug/diálise, enquanto as doses nos que tinham hiperparatiroidismo ligeiro e hiperparatiroidismo moderado foram em média 0,9 e 0,8 ug por diálise, respectivamente. A análise destes resultados sugere que 0,75 ug/diálise deverá ser a dose mínima

administrada em cada diálise, se bem que doentes com hiperparatiroidismo muito grave, definido por níveis de PTH intacta > 1200 pg/ml, possam precisar de doses de 3,5 e até mesmo de 5,0 ug por diálise (53,54,75).

8 - Factores intrínsecos das glândulas paratiroideias e resposta ao calcitriol:

Há determinadas características das glândulas paratiroideias que, por si só, podem contribuir para que o hiperparatiroidismo secundário não responda à terapêutica com o calcitriol. Destas características fazem parte o volume das glândulas paratiroideias, a presença ou não de hiperplasia nodular mais do que hiperplasia difusa, a redução da quantidade de VDR, e a proliferação de células paratiroideias desenvolvendo uma "massa" de células monoclonais.

Alguns autores sugeriram que as glândulas paratiroideias de maior volume, são mais resistentes à terapêutica com o calcitriol do que as glândulas mais pequenas (47,88); também as glândulas paratiroideias maiores estão associadas a níveis séricos mais elevados de PTH, o que também pode fazer antever uma maior probabilidade de insucesso do tratamento. A densidade de receptores de vitamina D está reduzida nas porções nodulares das glândulas paratiroideias hiperplásticas, comparada com as áreas com hiperplasia difusa (89). Além disso, as glândulas paratiroideias muito grandes têm uma porção da glândula muito maior ocupada por hiperplasia nodular em vez de hiperplasia difusa. As glândulas paratiroideias que desenvolvem hiperplasia nodular, são glândulas que vão ser resistentes à terapêutica com o calcitriol e o tamanho da glândula poderá servir de índice de resistência. Na verdade, já foi proposto que uma ecografia das glândulas paratiroideias deverá ser efectuada por rotina, o que iria permitir a medição do tamanho da glândula e fundamentar a oportunidade da terapêutica com Vitamina D (47).

Tradicionalmente, o hiperparatiroidismo secundário tem sido referido como uma doença

multiglandular, ligada à hiperplasia das quatro glândulas paratiroideias, e partindo-se implicitamente do princípio de que há uma reacção policlonal generalizada. É possível porem que a reacção policlonal inicial evolua para uma neoplasia monoclonal já não generalizada, com uma secreção hormonal mais autónoma. Por isso, propôs-se o desenvolvimento de um "tumor" monoclonal como modelo experimental para uma análise da proliferação das células paratiroideias autónomas e estudar o fenómeno da maior resistência ao tratamento com calcitriol. Arnold et al (90) examinaram a clonalidade de glândulas paratiroideias removidas cirurgicamente de 11 doentes sujeitos a hemodiálise com hiperparatiroidismo secundário grave (níveis séricos de PTH intacta em média > 16 vezes o limite superior normal) e verificaram a presença duma monoclonalidade destas glândulas em 7 dos 11 doentes, para o que usaram dois métodos independentes, e demonstrativos desse facto. Com base nestes resultados, os autores sugeriram que o estudo da monoclonalidade do tecido paratiroideo obtido por biópsia orientada por ecografia seria um meio inovador e útil para se prever a resistência à terapia com calcitriol (47).

9 - Recomendações para a terapêutica com o calcitriol em doentes com insuficiência renal crónica.

Com base em todos os dados referidos e de acordo com a experiência pessoal do meu grupo de trabalho, propõe-se a seguinte abordagem a doentes que iniciaram diálise: Inicialmente, deverá haver especial atenção à restrição dietética do fósforo e à atempada ingestão de agentes quelantes de fósforo. Recomenda-se somente o uso de carbonato de cálcio e se possível do acetato de cálcio. O objectivo de se alcançarem níveis séricos de fósforo adequados pode conseguir-se num período de tempo que vai de poucos dias até semanas em alguns doentes, enquanto que outros precisam de meses até anos antes de modificarem a sua dieta e aderirem á terapêutica com as grandes doses de quelantes de

fósforo que por vezes são necessárias. Alguns doentes nunca vão conseguir cumprir estas recomendações. Há que controlar os níveis séricos de cálcio e um dialisante com níveis adequados de cálcio deve ser escolhido; como rotina deverá ser usado dialisante com uma concentração de cálcio de 2,5 mEq/L; no entanto, se o cálcio sérico for inferior a 10,5 mg/dl, o cálcio do dialisante poderá ser aumentado para 3,0 a 3,5 mEq/L consoante o que estiver disponível. Durante este tempo, serão medidos os níveis séricos de PTH intacta, habitualmente em intervalos de três meses. Quando é conseguido o devido controlo de fósforo e sabemos que não existe hipercalcemia, inicia-se terapia com calcitriol. No Quadro I-2 encontra-se indicado quando iniciar tratamento com calcitriol e qual a dose inicial, e fornece um algoritmo para o ajuste da dose. Quando a PTH intacta sérica desce mais de 50% ou abaixo de 300 pg/ml, a dose de calcitriol deve ser reduzida, com o objectivo de manter os níveis de PTH intacta entre 150 a 300 pg/ml. Estudos de longo prazo com biópsias ósseas são obviamente necessários para identificar os níveis séricos de PTH intacta mais adequados no âmbito deste tratamento.

Resumo: Os dados actualmente disponíveis sugerem determinadas vantagens do tratamento intermitente com calcitriol sobre o tratamento via oral contínuo, em doses diárias. Os doentes deverão ter adequado controlo de fósforo (fósforo sérico < 5,5 a 6,0 mg/dl), representando a hipercalcemia (cálcio sérico > 10,5 a 11,0 mg/dl) uma contra-indicação para iniciar terapia com calcitriol. Doses de calcitriol superiores a 0,75 ug por tratamento de hemodiálise revelam-se com muita frequência associadas a uma adequada supressão dos níveis de PTH; os doentes com hiperparatiroidismo grave muitas vezes precisam de doses maiores. Os doentes devem ser seleccionados devidamente e o nível sérico de PTH intacta pode servir de orientação para a necessidade ou não de iniciar terapia, e os níveis séricos de cálcio e fósforo servem para monitorizar a ocorrência de "efeitos secundários". É

essencial o controlo adequado e contínuo dos níveis séricos de fósforo e a redução da concentração de cálcio do dialisante é essencial para permitir o uso de doses adequadas de sais de cálcio como quelantes de fósforo e para permitir o uso das doses necessárias de calcitriol. Quais os níveis séricos PTH intacta a procurar obter com o tratamento com calcitriol ainda não se sabe com precisão; alguns dados sugerem que as características ósseas podem ser mais suprimidas do que os níveis séricos de PTH intacta devido a um possível efeito directo do calcitriol no osso. Para responder a esta e outras importantes questões são necessários mais estudos clínicos cuidadosos.

Quadro I-1. Resumo dos estudos prospectivos, controlados comparando calcitriol administrado de forma intermitente quer por via oral quer por via parentérica:

ESTUDO COM INDICAÇÃO DA DOSE DE CALCITRIOL E A SUA DURAÇÃO	Casos: -Número de doentes -Via de administração	Níveis da iPTH antes do tratamento PTH (pg/ml)	Variações dos níveis PTH (% da mudança entre o início e o fim do estudo)	Outras observações
Fischer & Harris (76) 1-2 ug/HD 4 meses	11 doentes Estudo cruzado	446±111	Via parentérica: ↓77% Via oral: ↓62%	Episódios de Hipercalcemia episódicos: IV - 11 in 8 doentes PO - 10 in 7 doentes
Goodman et al (79) 1 ug 3 x semana (DPCD or DPCC) 12 months	Intraperitoneal: 9 doentes Via oral: 9 doentes	572±483 (IP & PO combinados)	Redução semelhante: 281±263 (após 8 meses) 435±391 (após 12 months) (IP&PO combinados)	Biopsia óssea: 14/18 melhoria da osteíte fibrosa 6 converteram em doença aplástica
Quarles et al (77) 2 to 4 ug/HD 9 meses	Via intravenosa: 10 doentes Via oral: 9 doentes	890±120 902±110	Reduções similares com ambas as vias de administração Combinadas: ↓42%	Tamanho das glândulas paratiroideia: Não mudou Hiperfosfatemia Foi frequente
Faugere et al (78) 2.5 to 3 ug/HD 12 meses	Via intravenosa: 14 doentes Via oral: 13 doentes Placebo: 6 doentes	Biopsia óssea: Melhorada:8/14 doentes (via intravenosa) Melhorada:10/13 doentes (via oral) Níveis de iPTH pré-tratamento:N.A.	Via parentérica: ↓23.7% Via oral: ↓49.1% Placebo: ↑19%	Tratamento interrompido: Aumento Ca × P: 10/14 doente Hipercalcemia: 9/13 doentes
Levine & Song (73) 2 ug/HD 5.5 meses	Via intravenosa: 8 doentes Via oral: 8 doentes	Via intravenosa: 499±79 Via oral: 510±90	Via intravenosa: ↓69±12% Via oral: ↓66±7.4%	Biodisponibilidade Area debaixo da curva: não foi diferente Pico dos níveis séricos ½ hr após administração: Intravenoso > oral 1 hr após e depois: não foi diferente

Quadro I-2. Tratamento com Vitamina D: Um Algoritmo com as medidas terapêuticas sequenciais:

1. Ajustamento da dose de quelantes intestinais de fósforo e dieta adequada por aconselhamento: pode requerer 2 meses a 1 ano
Controlo do níveis séricos de P < 6.0 mg/dl
2. Ajustamento da concentração de Ca no banho de diálise:
Se Ca sérico > 8.0 - 8.5 mg/dl: Ca do dialisante, 2.5 mEq/L
Se Ca sérico < 8.0 - 8.5 mg/dl: Ca do dalisante, 3.0 - 3.5 mEq/L

Cumpridos os # 1 e # 2, passe-se ao # 3:

3. Avaliação dos valores séricos da PTH intacta todos os 3 meses, sendo melhor que fosse mensalmente.
Se o nível de fósforo sérico < 6.5 to 7.0 e o nível de Ca sérico < 10.0 - 10.5, iniciar calcitriol administrado com cada diálise: dose ajustada de acordo com os níveis plasmáticos de iPTH:
 - a) iPTH < 100 pg/ml Calcitriol não indicado
 - b) iPTH 100 - 250 Continue o tratamento em curso, observe os níveis de iPTH.
Se os níveis de iPTH sobirem, passar ao passo seguinte.
 - c) iPTH 250 - 400 Tentar primeiro um melhor controlo dos níveis de fósforo sérico.
Se apesar disso os níveis de iPTH sobirem, passar para o passo seguinte.
 - d) iPTH 400 - 600 Calcitriol: 1.0 ug/HD, observar a iPTH ao fim de 3 meses: se nenhuma mudança sobe-se a dose para 2.0 ug/HD.

- e) iPTH 600 - 900 Calcitriol: 1.0 ug/HD; se os níveis séricos de Ca < 10.5 mg/dl.
 ↑ Dose para 2.0 ug/HD após 2-4 semanas.
- f) iPTH 900 - 1200 Calcitriol: 1.0 → 2.0 ug/HD ao fim de uma semana.
 Se os níveis de iPTH não baixarem dentro de 3-4 meses: aumentar a dose de calcitriol para 4.0 ug/HD
- g) iPTH 1200 - 2000 Calcitriol: 1.0 → 2.0 → 4.0 ug/HD em 4 semanas;
 Se os níveis de iPTH não baixarem á indicação para paratiroidectomia Admita-se o uso de doses mais elevadas de calcitriol se o nível sérico de fósforo for inferior a 5 mg/dl.

4. Siga-se os níveis séricos de P: Se sobem > 6.5 mg/dl, ↑ CaCO₄, Ca-Acetate ou ambos.
 Repetir #1 (e repetir) 4 & 5
 Se o nível de P sérico > 7.0 - 7.5 mg/dl, suspender calcitriol; quando o nível de P ↓ → recomeçar calcitriol
 Repetir o indicado no #1
5. Siga-se os níveis séricos de Ca: se sobem > 10.0 - 10.5 mg/dl;* atenção; se o nível de P < 4.5 mg/dl, ↓ a dose de quelante intestinal de fósforo;
 Repetir o indicado no #2.
 Se o nível de Ca 10.5 - 11.5 mg/dl; * ↓ dose de calcitriol dose; Repetir o indicado no #2.
 Se o nível de Ca > 11.5,* suspender o calcitriol,

baixe-se a concentração de Ca no dialisante.

Se o nível de Ca > 12 mg/dl e persistir: pare-se o calcitriol em definitivo prque uma paratiroidectomia impõe-se.

6. Níveis alvo de iPTH durante tratamento (poucos dados disponíveis para orientação):

Após 6-12 meses, iPTH de 300-400 parece ser adequada;

Se o nível sérico de > 11.0 mg/dl e a iPTH < 400-500 pg/ml, Considerar biopsia óssea, osso adinamico?

Quando o nível de iPTH baixa mais de 40 - 60%, reduzir a dose de calcitriol em 50%;

Se o nível de iPTH < 150 pg/ml, suspender terapêutica com calcitriol e abservar; se os valores de iPTH aumentam acima de 400 pg/ml, recomeçar tratamento com calcitriol numa dose reduzida em 25-50%.

* se o nível sérico de P > 6.5 to 7.0 mg/dl, parar calcitriol; doente é candidato para paratiroidectomia a não ser se o passo #1 tiver sucesso.

¶ Quando usar calcitriol na forma intravenosa ou oral depende dos recursos disponíveis para o obter; se ambas as formas estão disponíveis, use-se a forma oral; Tente-se a forma intravenosa se o nível de iPTH > 900 e a administração oral não tiver êxito após 4-6 meses.

D – Os novos compostos derivados da vitamina D

Os dois derivados activos da vitamina D actualmente em uso, o calcitriol e o alfalcidol $1\alpha(\text{OH})$ -vitamina D_3 ($1\alpha\text{D}_3$), são eficazes em suprimir a PTH intacta, e muito uteis para o tratamento do hiperparatiroidismo secundário em doentes sujeitos a hemodiálise, mas estão associados a uma incidência de hipercalcemia e hiperfosfatemia muito significativas com é evidente com discussão anterior. Por exemplo, o calcitriol oral pode causar uma hipercalcemia e hiperfosfatemia em 70% dos casos. Há um número significativo de doentes com hipercalcemia e hiperfosfatemia que não podem ser tratados com calcitriol. Estes doentes poderão beneficiar de um análogo da Vitamina D mais eficaz e com menos efeitos hipercalcémicos e hiperfosfatémicos. Os novos compostos de vitamina D que suprimem a secreção da PTH intacta (iPTH) mas que exercem efeitos calcémicos e fosfatémicos mínimos, podiam ser teoricamente ideais para o tratamento do hiperparatiroidismo secundário no doente sujeito a hemodiálise. As vantagens da possível dissociação entre o efeito supressivo sobre a iPTH e o efeito hipercalcémico conduziram ao estudo de vários análogos da vitamina D, incluindo o 22-oxacalcitriol (91,92), o hexafluorocalcitriol (93), e a 19-nor-1,25-diHidroxi-vitamina D (94,95). **Entre 1994 e 1998, estive envolvido no estudo do esterol da vitamina D, a 1-alfa-Hidroxi-vitamina D_2 ($1\alpha\text{D}_2$), e os resultados obtidos em doentes sujeitos a hemodiálise com hiperparatiroidismo secundário parecem promissores.**

Os capítulos seguintes vão-se centrar neste problema que representa o objectivo desta tese de Doutoramento que poderia formular-se desta forma final: as drogas em estudo podem considerar-se ideais para o tratamento do hiperparatiroidismo secundário nos doentes em diálise.

E – O Receptor do cálcio e os agentes calcimiméticos

(Adaptado de Coburn JW, Elangovan L, Goodman WG e Frazaio JM. *Kidney Int.* 1999. In press.).

1 - Introdução

Há um outro composto com um mecanismo de acção totalmente diferente que pode ser promissor para o tratamento do hiperparatiroidismo secundário. É o receptor do cálcio (CaR). A descoberta e a clonagem desse receptor extracelular sensível ao cálcio (CaR) e da sua função molecular no metabolismo mineral representa um avanço científico de grande importância nesta última década (18,96). Este receptor que está acoplado à proteína G, tem uma baixa afinidade ao Ca^{++} sérico e encontra-se em altas concentrações na superfície das células paratiroideias, nas células C da tiróide que são as secretoras de calcitonina, em vários segmentos do nefrónio, em determinadas áreas do cérebro, em células ósseas, e noutros tecidos. A activação deste receptor através de pequenas alterações no cálcio ionizado extracelular (Ca^{++}) e responsável pela relação inversa estreita entre níveis séricos da PTH e as pequenas alterações do Ca^{++} sérico e pela vertiginosa subida de cálcio urinário que ocorre quando o cálcio sérico sobe ligeiramente acima dum valor “limiar” (96). É este o mecanismo pelo qual o corpo controla a homeostase do cálcio e regula firmemente os níveis de Ca^{++} sanguíneo. Alterações deste receptor são responsáveis por determinadas doenças, incluindo a hipercalcemia familiar hipocalciúrica (FHH) (97), o hiperparatiroidismo infantil grave (98,99), e as formas hereditárias de hipoparatiroidismo (100,101). Alterações adquiridas no CaR podem desempenhar um papel na patogénese do hiperparatiroidismo secundário e também do primário. Um fármaco “calcimimético” que aumenta a afinidade do CaR ao Ca^{++} e reduz a secreção de PTH (102) foi conseguido e tem sido

estudado como terapêutica promissora para o hiperparatireoidismo primário e secundário. Neste capítulo, baseado na publicação indicada descreve-se o CaR, as suas características e as suas presumíveis funções em vários estados fisiológicos e fisiopatológicos. São revistos alguns distúrbios clínicos provocados por alterações do CaR, e são apresentados os novos dados iniciais, estudos em que eu também estive envolvido, sobre o uso clínico do novo agente calcimimético.

2- Características do receptor de cálcio: as características do CaR, um membro da superfamília dos receptores de proteína G, são revistas em pormenor em algumas publicações (103,104,105): Tem um grande componente extracelular composto de aproximadamente 700 ácidos aminados, sete segmentos intra-membranosos e um segmento citoplásmático com um carboxilo terminal, consistindo em aproximadamente 200 ácidos aminados. Uma característica única deste receptor em comparação com muitos receptores hormonais, que são activados por quantidades nanomolares do agonista, o CaR é sensível a alterações relativamente pequenas dos níveis do Ca^{++} extracelular aonde existe uma concentração muito elevada de Ca^{++} (superior a um milimole/litro). O CaR é um receptor acoplado á proteína G que ao ser activado estimula a fosfolipase C (PLC), que por sua vez causa níveis aumentados de inositol 1,3,5-trifosfato (IP3), o qual gera uma elevação da concentração citosólica do Ca^{++} , mobilizando o Ca de vários sítios intracelulares. A activação do CaR também inibe a acumulação de AMP cíclico intracelular em resposta a estímulos hormonais (96).

Outra propriedade do CaR é a sua ausência de especificidade. Assim, este receptor é também estimulado por outros catiões divalentes, tais como o magnésio, pelos elementos catiónicos trivalentes, como o gadolínio e o lântano, e por compostos policatiónicos, tais como a neomicina e a espermina. É provável que a afinidade deste receptor para o magnésio seja responsável pelos efeitos da hipermagnesemia em suprimir a secreção de PTH (106). É também provável que o efeito que

níveis séricos elevados de magnésio têm na excreção renal de cálcio, sódio e cloro (107,108) surjam como consequência da activação dos CaR existentes nos tubulos renais pelo Mg^{++} . A activação do CaR pelos catiões polivalentes, neomicina e gentamicina, poderá contribuir para determinados efeitos destes agentes sobre o rim, incluindo o desenvolvimento de insuficiência renal não oligúrica, devido provavelmente à deterioração do mecanismo de concentração renal sensível à vasopressina que acontece com a activação do CaR do tubulo colector medular. No Quadro I-3 apresentam-se as funções fisiológicas e algumas presumíveis implicações clínicas do CaR.

3 - Função do CaR nas Células Paratiroideias: A resposta secretora da célula paratiroideia a variações na concentração plasmática de cálcio observa-se em segundos, o que sugere uma acção directa do Ca^{++} sobre a membrana plasmática (96). A presença de CaR em elevadas concentrações na membrana da célula paratiroideia constitui o principal mecanismo sensor do Ca^{++} extracelular. A porção extracelular do CaR contém vários grupos de ácidos aminados ácidos envolvidos na ligação ao Ca^{++} . É através deste mecanismo que o CaR regula a secreção de PTH em resposta a pequenas variações da concentração extracelular de Ca^{++} (105,109).

4 - Função do CaR no Rim: No rim, a expressão do CaR foi observada no aparelho justaglomerular, ao longo do bordo luminal do tubulo contornado proximal, na superfície basolateral da porção espessa do ramo ascendente cortical (CTAL) da ansa de Henle, e na membrana apical, assim como na membrana luminal do tubulo colector medular interno (IMCD) (104,110). A localização do CaR no CTAL poderá contribuir para a inibição da reabsorção de cálcio, magnésio, sódio e cloreto, em resposta a um aumento na concentração extracelular do Ca e Mg neste local. Normalmente, a reabsorção de Ca e Mg faz-se pelo espaço intercelular em resposta a um elevado gradiente electrico

transtubular que é gerado pelo transportador luminal $\text{Na}^+\text{K}^+\text{2Cl}^-$. A activação do CaR apical estimula a PLC que liberta ácido araquidónico o qual, por sua vez, é metabolizado pelo citocromo P450; os metabolitos activos inibem o canal apical do K^+ assim como o co-transportador $\text{Na}^+\text{K}^+\text{2Cl}^-$. Estes efeitos resultam numa acentuada redução da voltagem transluminal, conduzindo a um transporte paracelular reduzido de Ca e Mg. A activação do CaR também inibe a adenilciclase estimulada pela PTH, reduzindo o transporte de Ca e Mg mediado pelo cAMP. No IMCD, o aumento de Ca^{++} e a sua acção no CaR do bordo basolateral inibe a produção de cAMP pela vasopressina, originando uma urina menos concentrada e poliúria. O aumento da concentração de Ca^{++} no fluido tubular activa também o CaR luminal o qual reduz a capacidade de concentração urinária (111), por diminuir especificamente a permeabilidade do tubulo colector à água, dependente dos canais de aquaporinas regulados pela ADH. O aumento do Ca^{++} no fluido extracelular diminui a hipertonicidade medular e, consequentemente, a eficácia do mecanismo de contra-corrente e a capacidade máxima de concentração urinária, por inibir o co-transportador $\text{Na}^+\text{K}^+\text{2Cl}^-$ localizado no ramo ascendente espesso da Ansa de Henle.

Assim, a redução da taxa de filtração glomerular, a redução da síntese cortical renal do calcitriol (112), e o aumento da excreção urinária de Ca e de Mg, condicionados pela hipercalcemia, são responsáveis pela excreção de um volume elevado de urina diluída dependente, no todo ou em parte, da activação do CaR nos vários segmentos do nefrónio.

5 - CaR noutros tecidos: a função do CaR encontrado no intestino (113), em alguns locais do cérebro (114) e nos pulmões, permanece por esclarecer. É possível que a activação do CaR pelo Ca^{++}

estímulo a formação e iniba a reabsorção do osso; de facto, a proteína G acoplada ao CaR foi identificada em precursores de células ósseas (115). Outros tipos de proteínas sensíveis ao Ca^{++} podem, para além disso, desempenhar uma função reguladora do metabolismo ósseo (116,117).

Parece que a regulação rigorosa do Ca^{++} plasmático, mediada fundamentalmente pela PTH, pelo calcitriol e, em menor grau, pela calcitonina, decorre de um mecanismo de controlo fino dependente da activação do CaR.

6 - Distúrbios clínicos envolvendo o CaR: alguns distúrbios hereditários ou adquiridos envolvendo o metabolismo do cálcio podem surgir de alterações na estrutura ou densidade do CaR. A patogénese do síndrome, designado por “hipercalcemia familiar benigna hipocalciúrica” (FHH) pode ser explicada por uma ou mais mutações que provocam uma perda parcial da sensibilidade do CaR ao Ca^{++} (97,98,118). Este defeito genético provoca um aumento da reabsorção tubular renal de cálcio, com aumento do Ca sérico e conseqüente aumento da carga filtrada de Ca. Este aumento do Ca sérico não é suficiente para inibir a secreção de PTH, devido á reduzida afinidade do Ca^{++} para o CaR, nas células paratiroideias. Estes doentes são totalmente assintomáticos, apresentando apenas uma ligeira hipercalcemia persistente, um baixo Ca urinário, e níveis de PTH séricos, que não são devidamente suprimidos, e se encontram no limite superior do normal ou até mesmo acima do normal. Curiosamente, estes doentes apresentam uma capacidade de concentração urinária conservada, em contraste com os doentes com hiperparatiroidismo primário (119). O hiperparatiroidismo grave neonatal que cursa com hipercalcémia grave e fracturas osseas múltiplas, representa a herança homozigótica desta mutação (120). Em ratos Knockout sem CaR observa-se nos heterozigóticos elevações modestas e benignas do Ca sérico e hipocalciúria, enquanto que os homozigóticos apresentam hipercalcemia grave, níveis de PTH acentuadamente elevados, anormalidades do

esqueleto e morte prematura (121). Mutações de outros tipos, envolvendo o CaR, foram descritas como causadoras de formas menos graves de hiperparatiroidismo neonatal (97,122), mas que se encontram fora do âmbito desta discussão.

Sabe-se actualmente que o síndrome da hipocalcémia autossómica dominante com hipercalciúria, resulta de várias mutações que aumentam a sensibilidade do CaR ao Ca^{++} (100,101,123). Os indivíduos afectados apresentam geralmente hipocalcemia grave tratada com cálcio e vitamina D. É comum o aparecimento de nefrocalcinose, litíase renal e alterações da função renal (124). É difícil separar as consequências da doença de base das produzidas pelo tratamento, sendo importante o diagnóstico precoce desta situação para a instituição de um correcto tratamento.

Podem haver distúrbios adquiridos envolvendo o CaR. Glândulas paratiroideias obtidas cirurgicamente de doentes urémicos com hiperparatiroidismo secundário podem apresentar uma expressão reduzida de CaR na superfície das células paratiroideias (19,20). Em doentes com adenomas ou carcinomas da glândula paratiroideia os dados são algo inconsistentes, apresentando expressão reduzida do receptor em algumas glândulas. É possível que, alterações na densidade de CaR nas células paratiroideias possam, em parte, ser responsáveis pela mudança do "set point" das células paratiroideias (i.e., a concentração de cálcio necessária para suprimir em 50% a secreção máxima de PTH). Em modelos experimentais animais, os dados que sugerem regulação do CaR são negativos ou controversos. Dois estudos realizados em ratos com deficiência de vitamina D não demonstraram qualquer regulação dependente do cálcio do mRNA do CaR (125,126). Um estudo não mostrou qualquer efeito do calcitriol sobre o mRNA do CaR, enquanto que outro estudo mostrou uma redução de 40% do mRNA do CaR em ratos com deficiência de vitamina D, recuperada com uma terapêutica com calcitriol (126). Assim, permanece ainda alguma incerteza quanto à importância da

regulação alterada do CaR como factor determinante na predisposição para o desenvolvimento de hiperparatiroidismo secundário progressivo em doentes com deterioração progressiva da função renal.

Dados experimentais indicam que há reduções na densidade do CaR nas células paratiroideias de ratos com idades avançadas mas no rim não foram observadas alterações no CaR (127). A existir no Homem um processo semelhante, este poderia contribuir para as alterações dos níveis de PTH observados com a idade e a tendência para o desenvolvimento do hiperparatiroidismo com a idade. Está demonstrado experimentalmente em ratos que a expressão de CaR no tecido renal está modestamente reduzida na insuficiência renal; isto poderá contribuir para a hipocalciúria observada na insuficiência renal (128).

7 - Uso Experimental e Clínico de Agentes calciméticos: Para o clínico o desenvolvimento de substâncias calcimiméticas que modelam o CaR tornando-o mais sensível ao Ca^{++} e que possam suprimir a secreção de PTH, poderão proporcionar tratamento médico quer para o hiperparatiroidismo primário quer secundário. O composto, R-568, desenvolvido por cientistas na NPS Pharmaceuticals (129,130), foi submetido a ensaios extensos e intensos.

Em ratos com uremia induzida experimentalmente, a proliferação de células paratiroideias, aumentada neste modelo do hiperparatiroidismo secundário, foi medida *in vivo* através do 5-bromodeoxiuridina (BrdU). Grupos de ratos urémicos tratados durante 4 dias com duas doses diferentes de R-568 foram comparados com os que receberam só o veículo como controlo. O grau de proliferação das células paratiroideias, estimado pela expressão do BrdU, diminuem em 20 e 50% com doses baixas e elevadas de R-568, respectivamente. Não se verificaram efeitos em outros tecidos com potencialidades proliferadoras. O volume das células paratiroideias foi reduzido apenas com a dose elevada, sem se verificar um aumento da apoptose (131). O efeito de R-568 sobre a

osteíte fibrosa foi avaliado num outro estudo usando ratos urémicos (132). Duas doses diferentes do agente clacimimético foram administradas diariamente durante 30 dias, verificando-se uma redução dos níveis de PTH dependente da dose, e uma acentuada melhoria da osteíte fibrosa. A redução da densidade mineral do osso cortical e da dureza óssea verificados com o hiperparatiroidismo secundário foram revertidos em larga medida pelo tratamento com R-568.

Vários estudos documentaram a eficácia das doses únicas ou de duas doses diárias de R-568 na redução dos níveis de PTH em doentes com hiperparatiroidismo primário e secundário (133,134,135). Os resultados iniciais das experiências clínicas com a substância calcimimética, R-568, encontram-se resumidas no Quadro I-4.

No hiperparatiroidismo primário e secundário, uma dose oral única inicial de R-568 produziu uma supressão máxima dos níveis de PTH, dependente da dose, uma a duas horas após a administração. A diminuição de Ca^{++} sanguíneo foi significativa apenas com a dose maior e ocorreu apenas depois de baixarem os níveis de PTH. As reduções percentuais da PTH em relação aos valores de pré-tratamento foram notavelmente semelhantes após a administração das doses de R-568 de 100 a 200 mg, com reduções médias de PTH entre 63% e 73% em dois estudos (133,134) e nas publicações preliminares (135,136); esta supressão foi independente dos níveis plasmáticos de PTH antes do início do tratamento, que eram em média 77 pg/ml nos doentes estudados com hiperparatiroidismo primário e variou de 218 a 1287 pg/ml nos doentes estudados com hiperparatiroidismo secundário.

Nas mulheres com hiperparatiroidismo primário ligeiro, a diminuição máxima dos níveis séricos de PTH ocorreu cedo, ao fim de uma hora após as doses mais baixas de R-568, enquanto que esta supressão só ocorreu duas horas após a administração quando foram usadas as doses maiores (133). A duração deste efeito supressor aumentou com a dose; os níveis séricos de PTH regressaram aos valores basais quatro horas depois da administração de doses de 80 mg ou menos de R-568, mas

com 160 mg de R-568 demoraram 8 horas a voltar aos valores basais. Uma redução pequena mas significativa de Ca^{++} sanguíneo ocorreu apenas com a administração da dose mais alta de R-568 que foi de 160 mg. Após esta dose, o cálcio urinário, avaliado pelo quociente de cálcio/creatinina na urina, subiu antes das quatro horas após a administração do fármaco, mas regressou para valores semelhantes aos valores basais antes de 8 horas após a administração do R-568.

Dois estudos realizados em doentes em hemodiálise com hiperparatiroidismo secundário utilizaram duas doses de R-568, administrada cada uma destas doses em dois dias sucessivos (134,135). Em sete doentes com hiperparatiroidismo ligeiro (134), doses de 40 ou 80 mg de R-568 baixaram os níveis séricos de PTH intacta mais de 30% após a primeira dose em 5 dos 7 doentes e esta redução foi de mais de 60% após a segunda dose em 6 dos 7 doentes. Quando foram usadas doses de 120 e 200 mg de R-568, os níveis de PTH intacta foram suprimidos em mais de 60% após a primeira dose em 6 dos 7 doentes. Após 24 horas, os níveis séricos de PTH intacta antes de ser administrada a segunda dose estavam ainda suprimidos em 50% abaixo do valor basal inicial; no entanto, os níveis séricos de PTH intacta continuaram a descer após a segunda dose, com uma nova supressão de 50%, ou mais, em 6 dos 7 doentes. O nível de Ca^{++} sanguíneo não foi alterado significativamente após a dose baixa, mas desceu significativamente após a dose elevada (Quadro I-4). Outros resultados preliminares em doentes em hemodiálise com hiperparatiroidismo secundário grave (135) mostram reduções significativas dos níveis de PTH intacta após tratamento com R-568 na dose de 100 mg e reduções ainda mais marcadas após a administração de 200 mg deste fármaco. Os níveis séricos de PTH intacta não regressaram, porem, aos níveis basais do pré-tratamento, após 24 horas, altura em que a segunda administração provocou uma percentagem de redução da PTH semelhante. Os níveis séricos de cálcio baixaram, com reduções mais acentuadas após a dose de 200

mg de R-568. Os níveis de calcitonina não foram alterados com qualquer uma das doses de R-568.

Num relatório preliminar (136), a administração de R-568 em doses de 100 mg por dia levou à supressão prolongada dos níveis séricos de PTH que persistiu durante 15 dias, que foi a duração do tratamento. Três dos 15 doentes a receberem tratamento com R-568 desenvolveram hipocalcemia que levou à interrupção do estudo nestes 3 doentes visto os níveis de Ca^{++} sanguíneo descenderem abaixo de 1,0 mMol/l (4.0 mg/dl).

Todos estes estudos com a administração do R-568 por períodos curtos de tempo indicam que este calcimimético reduz de forma eficaz os níveis séricos de PTH intacta (iPTH) em doentes com hiperparatiroidismo primário ligeiro e também nos doentes em hemodiálise com hiperparatiroidismo secundário de gravidade variada. A duração da acção deste composto a seguir à administração foi substancialmente maior nos doentes com insuficiência renal crónica terminal do que naqueles com hiperparatiroidismo primário e função renal normal. Em cada um destes estudos, houve uma redução dos níveis séricos do Ca^{++} ou do Ca total que só ocorreu após os níveis de PTH terem sido reduzidos. O acentuado e consistente grau de supressão dos níveis séricos PTH produzido pelo tratamento calcimimético nestes doentes com níveis de PTH amplamente diferentes sugere que a diminuição na densidade de CaR que ocorre em algumas glândulas paratiroideias pode ser clinicamente menos importante do que inicialmente se pensava.

O agente calcimimético, R-568, foi administrado a um doente com carcinoma da glândula paratiroideia em fase inoperável, com uma hipercalcemia grave (Ca^{++} sanguíneo 1.96 mMol/l) e níveis muito elevados de PTH intacta (1128 pg/ml) acompanhados de alterações do estado mental; a hipercalcemia não melhorou com a infusão de soro fisiológico e furosemida intravenosos, assim com à administração de várias doses de pamidronato intravenoso e calcitonina de salmão durante 18 dias

(137). O tratamento com o calcimimético R-568 foi iniciado na dose de 200 mg/dia e que foi posteriormente aumentada para 400 mg/dia. Os sintomas do doente melhoraram após três dias de tratamento com o R-568, tendo tido alta hospitalar após 28 dias de tratamento com um nível sérico de Ca^{++} de 1,53 mmol/l e um nível sérico de PTH intacta de 357 pg/ml. O tratamento com o calcimimético foi mantido, a dose foi aumentada para 600 mg/dia, e os níveis séricos de cálcio total mantiveram-se em 2.75 - 3,0 mMol/l apesar de existir um aumento progressivo dos níveis de PTH para 2000 - 3500 pg/ml provavelmente devido à progressão do carcinoma paratiroideo. O doente permaneceu activo, a trabalhar a tempo inteiro e sem quaisquer efeitos secundários durante o período de tempo superior a 600 dias em que foi seguido. Além disso, todas as medições da função cardíaca, renal, hepática, hematológica e pancreática permaneceram estáveis ao longo de todo o período de tratamento. Embora estas observações tivessem sido realizadas apenas num doente, os dados revelaram que o R-568 podia ser dado com segurança durante um período prolongado.

Assim, os agente calcimiméticos são poderosas armas terapêuticas que potencialmente poderão ser muito úteis no tratamento do hiperparatiroidismo, carcinoma paratiroideo e, algumas eventualmente, noutras doenças, tais como a paratiromatose e a calcifilaxia. Em doentes com hiperparatiroidismo primário, isto pode ser uma alternativa à cirurgia em casos ligeiros ou em doentes com elevado risco cirúrgico. Em doentes com insuficiência renal crónica terminal, o actual tratamento do hiperparatiroidismo secundário poderá tornar-se mais seguro evitando-se graves situações de hipercalcemia, hiperfosfatemia ou o elevado produto CaX P que são consequência do tratamento actualmente utilizado com compostos activos da vitamina D. Para estas elevadas expectativas se tornarem realidade na prática clínica corrente é ainda necessário esperar por experiências controladas de longo prazo, usando estes agentes calcimiméticos.

Este constitui também um assunto em que estou empenhado pessoalmente prosseguir no seu

mais completo esclarecimento.

Quadro I-3. Potenciais implicações clínicas e fisiológicas do receptor extracelular de cálcio (CaR).

Contolo da secreção de PTH pelo Ca^{++} : Existe uma correlação estreita entre a secreção de PTH e o nível sérico de Ca^{++} ; pode ser responsável pelo "set point" para a secreção de PTH. O CaR também controla a síntese de PTH.

Excreção renal de Ca: Correlação estreita entre o nível sérico de Ca^{++} e a excreção de Ca urinário quando os níveis séricos de Ca^{++} sobem, mesmo com aumentos mínimos.

Fisiopatologia da hipercalcemia familiar hipocalciurica (FHH): mutações genéticas heterozigóticas do CaR que torna este menos sensível ao Ca^{++} sérico. Formas homozigóticas para a mesma mutação(ões) apresentam-se como **hiperparatiroidismo neonatal grave (HPTNG)**.

Fisiopatologia do hiperparatiroidismo autossômico dominante (HPAD): Esta doença tem origem em mutações do gene do CaR que tornam este receptor mais sensível ao Ca^{++} sérico.

Sintomas e características clínicas de hipercalcemia/hipercalcúria: Este receptor está envolvido na origem da poliúria, na diminuição da capacidade de concentração renal, na sede, hipermagnesiúria com tendência a hipomagnesemia e na natriurese (particularmente durante uma infusão de cálcio).

Regulação da síntese de calcitriol: O CaR pode estar envolvido no controlo da síntese renal de calcitriol provocada por alterações nos níveis séricos de Ca^{++} , que ocorre independentemente da PTH.

Efeitos da hipermagnesemia: Este receptor pode estar envolvido supressão da secreção de PTH e no aparecimento de hipercalcúria e natriurese que ocorre na presença de hipermagnesemia.

Manifestações da intoxicação por aminoglicosídeos: o CaR pode explicar a poliúria e a hipomagnesemia que se observa frequentemente na insuficiência renal aguda que acompanha a intoxicação por por aminoglicosídeos. O mecanismo para a concentração ao nível da célula tubular renal dos aminoglicosídeos também poderá envolver o CaR.

Agentes calcimiméticos: Têm grande potencial terapêutico no tratamento de hiperparatiroidismo primário e secundário.

Quadro I-4. Resumo da experiência clínica com o uso do agente calcimimético, R-568.

Doença: (referência) [N.º de doentes]	Protocolo de tratamento Duração de Tratamento	Dose de R-568 (mg/dose)	Varição da PTH [2 hr] % do valor basal	Ca ⁺⁺ sérico (mMol/l)	Comentários:
Hiperparatiroidismo primário (133) [20 mulheres]	Doses únicas: 4-13 doentes receberam cada dose; Seguidos durante 36 horas.	Placebo e 4, 10, 20, 80 e 160 mg	10 mg: sem efeito 20 mg: -26% (p<0,03) 80 mg: -42% (p<0,01) 160 mg: -73% (p<0,005)	40 mg: sem alterações 80 mg: ligeira diminuição (n.s.) 160 mg: 1,35 1,30 (p < 0,03)	160 mg: Ca/Creat urinário: 0,27 0,63 mg/mg após 4 hrs; depois desceu para 0,40 ao fim de 8 horas.
Hiperparatiroidismo secundário, ligeiro (134) [7 doentes em hemodiálise]	1 dose/dia X 2 dias Dose baixa, n=7; Dose alta, n=7;	Baixa: 40 ou 80 mg Alta: 120 ou 200 mg	Baixa: iPTH basal, 186±48 pg/ml Dia 1: -37%; Dia 2: -52% Alta: iPTH basal, 218±52 pg/ml Dia 1: -63%; Dia 2: -61%	Low: 1.24 1.21, n.s. High: 1,30 1.22 at 24hr 1.14 at 48hr (both, p<0,005)	Dose alta: PTH manteve-se abaixo do nível basal após 24 e 48 horas; Os níveis de calcitonina aumentaram após tratamento.
Hiperparatiroidismo, moderado a grave (135) [12 doentes em hemodiálise]	1 dose/dia X 2 dias; Dose baixa, n=6; Dose alta, n=6;	Baixa: 100 mg/dia Alta: 200 mg/dia	Baixa: iPTH basal, 1030 pg/ml; Dia 1: -59%, Alta: iPTH basal, 1387 pg/ml; Dia 1: -73%, Dia 2: reduções semelhantes	Ca sérico: Baixa: 17% de doentes < 2.1 Média, 2.6 2,3 Alta: 83% dos doentes < 2.1 Média, 2.6 1.98	sintomas ligeiros de hipocalcemia resolveram sem tratamento.
Hiperparatiroidismo secundário, moderado a grave (136) [21 doentes em hemodiálise]	Dose administrada uma vez dia. Duplamente cego, com grupo placebo: R-568, n=16 Placebo, n=5	100 mg/dia durante 15 dias	iPTH basal, 599±112 pg/ml; Após 1º dose: PTH foi -66%, -70% e -30% ao fim de 1, 4, e 24 hrs (<0,01); iPTH pré-tratamento nos dias 5, 8, 11, 12 e 15 foi 47-69% do valor basal (cada, p<0,05). PTH não variou com placebo.	Pré-tratamento: 1,31±0,02 1,13±0,02, Dia 2 1,23±0,03, Dia 3 3 doentes com Ca ⁺⁺ sérico < 1,00 mMol/l foram retirados. Ca ⁺⁺ não mudou com placebo.	O efeito supressivo foi mantido durante 15 dias; 5 doentes tiveram sintomas de hipocalcemia

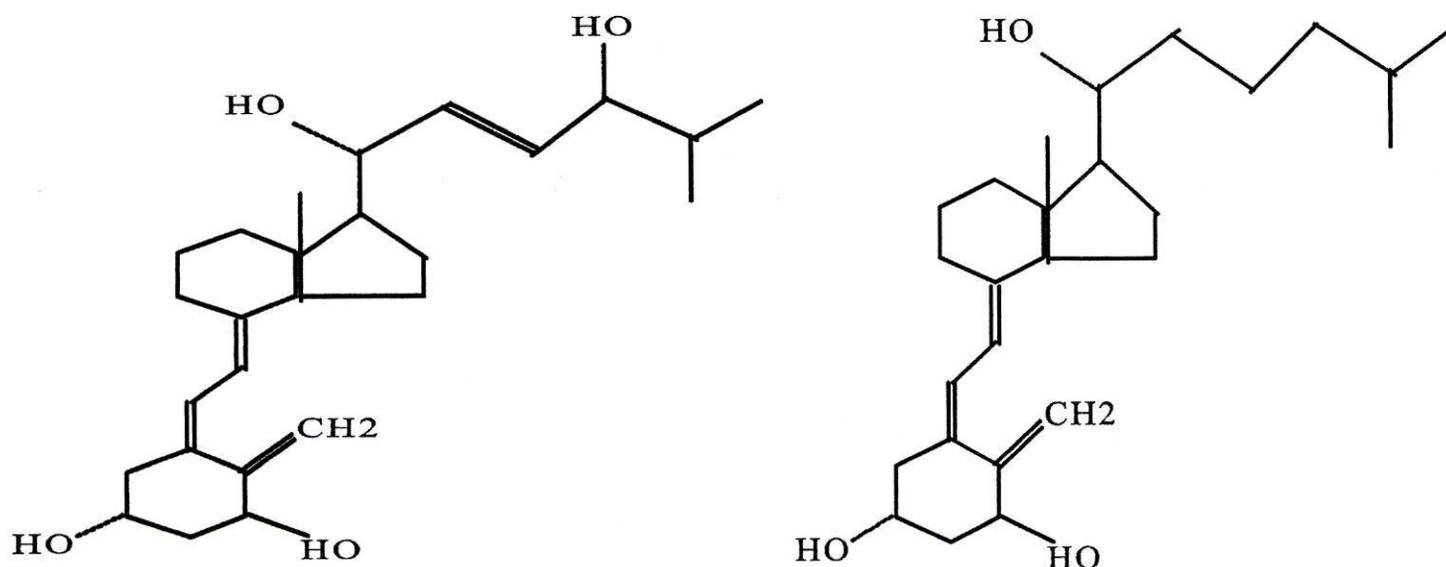
<p>Carcinoma da paratiroidaia (137) [1 doente tratado durante 600 dias]</p>	<p>Antes de tratamento com R-568, Ca sérico não baixou com NaCl, pamidronato ou calcitonina.</p>	<p>Dose inicial de 200 mg aumentada para 600 mg/d. Duração de tratamento aproximadamente 600 dias (4 doses/dia)</p>	<p>Pre-tratamento: 600-1050 pg/ml; Dias 25-40: 250-600; Subiu após 50º dia: 500 a 5000 pg/ml</p>	<p>Ca sérico, Pre-tratamento: 3.25; Dias 20-30, < 2.75; Dias 250-650, 2.75-3.10</p>	<p>Sintomas de hipercalcemia melhoraram após 3 dias de tratamento. Ca urinário desceu nos on dias 20-40 com uma creatinina sérica de 2,3 a 2.2 mg/dl.</p>
---	--	---	--	--	---

F - Um-Alfa-Hidroxivitamina D₂ : Dados da Experiência em Animais e no Homem que Serviram de Base para a Elaboração dos Estudos Apresentados.

Esta secção debruça-se sobre resultados de estudos, quer animais quer humanos, que serviram de base para um interesse renovado neste composto, a 1 α D₂. Os resultados de um pequeno ensaio clínico inicial com o uso de 1 α D₂ por via oral para o tratamento do hiperparatiroidismo secundário em doentes sujeitos a hemodiálise também são discutidos nesta secção.

O novo fármaco em investigação, a 1-alfa-Hidroxivitamina D₂ é um análogo sintético da 1-alfa-hidroxivitamina D₂ a forma hormonal que ocorre naturalmente a partir de hormonas da vitamina D₂. A sua fórmula estrutural é apresentada em baixo (Figura I-1) e comparada com a 1-alfa-Hidroxivitamina D₃ actualmente utilizada:

Figura I-1



1-alfa-hidroxivitamina D₂

1-alfa-hidroxivitamina D₃

A fórmula molecular é $C_{28}H_{44}O_2$, com um peso molecular de 412.656.

As Vitaminas D (calciferóis) são moléculas esteróides onde foi aberto um dos quatro anéis (secosteróides). Os precursores da vitamina D₂ e da vitamina D₃ são produzidos em plantas (ergosterol) e animais (7-deidrocholesterol), respectivamente. As vitaminas D₂ e D₃ que são naturalmente produzidas diferem apenas no que respeita à estrutura da sua cadeia lateral (Figura I-1) e são geradas por uma transformação não enzimática que se processa através da irradiação pelos raios ultravioletas dos seus precursores. O passo inicial da activação da vitamina D é a introdução de um grupo hidroxilo no carbono 25. A vitamina D₂ tal como a vitamina D₃ é hidroxilatada no fígado para formar 25-hidroxivitamina D₂, e é depois hidroxilatada na posição 1 α no rim para formar a 1,25-dihidroxivitamina D₂. Assim, a 1,25-dihidroxivitamina D₂ e a 1,25-

dihidroxitamina D_3 são formas biologicamente activas de vitamina D (138). Ambas estas hormonas regulam com precisão os níveis de cálcio do sangue, mantendo-os dentro dos limites necessários para exercerem funções essenciais do organismo, incluindo o crescimento ósseo normal. Especificamente, tanto a 1,25-dihidroxitamina D_2 como a 1,25-dihidroxitamina D_3 controlam a absorção intestinal do cálcio dietético, a conservação do cálcio pelo rim, e se necessário, a mobilização de cálcio do esqueleto. Ambas parecem actuar directamente sobre as células ósseas para estimularem o crescimento do esqueleto, e sobre as glândulas paratiroideias para suprimirem a secreção de PTH. Estas funções são mediadas através da interacção destas hormonas com receptores proteicos altamente específicos nos vários tecidos em alvo. Foram realizados estudos com o objectivo de se determinar se a diferença estrutural entre a vitamina D_2 e a vitamina D_3 tem implicações para os efeitos destes compostos sobre a homeostase do cálcio e o metabolismo ósseo.

Antigamente, a vitamina D_2 , que é produzida pela irradiação dum esteroide de plantas, ergosterol, gozou de vasta utilização em comparação com o colecalciferol (vitamina D_3), a forma natural da vitamina D que é sintetizada na pele. A razão para este uso generalizado foi a facilidade de produção com um custo inferior da sua produção comparado com a vitamina D_3 . O desenvolvimento de métodos eficazes para a produção de vitamina D_3 levou a um uso muito difundido deste composto, que é a vitamina D naturalmente produzida nas espécies mamíferas do reino animal. Pensa-se que a vitamina D_2 e a vitamina D_3 são igualmente potentes em seres humanos e noutros mamíferos (138) excepto os "New world monkeys" (139). Em ratos com deficiência de vitamina D, a $1\alpha D_2$ tem uma eficácia idêntica à da $1\alpha D_3$ em estimular a absorção intestinal de cálcio, em mobilizar o cálcio ósseo, e em induzir a cura do raquitismo (140); no entanto, são necessárias doses de $1\alpha D_2$ cinco a seis vezes maiores do que as doses de $1\alpha D_3$ para produzir uma hipercalcemia e revelar toxicidade em ratos normais (141) e em ratinhos (142).

Num estudo realizado em 15 mulheres pós-menopáusicas (143), verificou-se um

proporcionado aumento no cálcio urinário com a administração oral de doses progressivamente crescentes de $1\alpha\text{D}_2$. Estes doentes receberam $1\alpha\text{D}_2$ oral, 0,5 ug/dia inicialmente; a dose foi depois aumentada sucessivamente, semana a semana para 1,0, 2,0, 4,0 e 5,0 ug/dia. As doses chegaram mesmo a 8 ug/dia, em 5 doentes, e a 10 ug/dia noutros 4 doentes dos 15 doentes incluídos no estudo. Houve um aumento pequeno mas proporcionalmente crescente na excreção urinária do cálcio urinário com doses entre 0,5 e 5 ug/dia, mas com doses inferiores a 5,0 ug/dia não houve verdadeiramente hipercalciúria, definida como um cálcio urinário acima de 350 mg/24 h.. Além disso, houve hipercalciúria em apenas 4 dos 15 sujeitos ao receberem uma dose de 5,0 ug/dia. Houve também aumentos progressivos na osteocalcina sérica, um índice da actividade osteoblástica, que teve significado quando a dose atingiu os 2,0 ug/dia e os níveis de osteocalcina aumentaram substancialmente com as doses superiores. Não houve aumento na excreção urinária de hidroxiprolina durante o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$, uma observação consistente com o facto de não existir um aumento da reabsorção óssea. Este estudo não comparou o $1\alpha\text{D}_2$ com outros esteróis da vitamina D, mas os aumentos do cálcio urinário foram substancialmente menores do que os referidos aos doentes osteoporóticos que receberam $1\alpha\text{D}_3$ em doses de 2,0 ug/dia (144,145). Estas observações sugerem que a $1\alpha\text{D}_2$ exerce um menor efeito estimulador da absorção intestinal do cálcio do que a $1\alpha\text{D}_3$.

Com base nas observações anteriores, realizou-se um estudo inicial utilizando $1\alpha\text{D}_2$ oral em doentes em hemodiálise e com hiperparatiroidismo secundário (147). Após 8 semanas de um período sem administração de calcitriol para servir de referência de base, administrou-se $1\alpha\text{D}_2$ via oral, 4 ug/por dia ou 4 ug três vezes por semana, a 24 doentes sujeitos a hemodiálise com hiperparatiroidismo secundário moderado a grave, definido como níveis plasmáticos de PTH intacta pré-tratamento oscilando entre 359 e 1521 pg/ml. A dose de $1\alpha\text{D}_2$, foi então ajustada durante 12 semanas numa tentativa de se manterem os níveis plasmáticos de PTH intacta entre os 130 e os 250 pg/ml, níveis supostamente associados a uma remodelação óssea normal (5,65,66). Em 6 dos 24

doentes inicialmente tratados com 4 ug três vezes por semana, a dose teve de ser aumentada para 4 ug/dia, que foi a dose máxima administrada que se atingiu, após 6 a 8 semanas, quando havia pouca ou nenhuma supressão dos níveis plasmáticos de PTH intacta. Os níveis plasmáticos de PTH intacta desceram do valor basal de 672 ± 70 pg/ml para o de 289 ± 36 pg/ml no fim do tratamento ($p < 0,05$) e isso correspondeu a uma diminuição percentual de PTH intacta plasmática entre os 48 aos 96%. Além disso, 87,5% dos doentes atingiu os níveis desejados de PTH intacta (entre 130 e 250 pg/ml). Os níveis séricos basais de cálcio subiram modestamente de $2,20 \pm 0,05$ para $2,37 \pm 0,05$ mM/l após o tratamento. Apenas uma vez sugiu uma ligeira hipercalcemia com um cálcio sérico de 3,07 mM/l, o que levou à interrupção do tratamento. Este episódio aconteceu num doente que foi hospitalizado por uma pneumonia e sujeito a repouso permanente no leito. Não existiram outros episódios de hipercalcemia, e nenhum outro nível sérico de calcio excedeu 2.80 mM/l. A $1\alpha D_2$ administrada por via oral, numa dose de 4 ug por dia ou 4 ug três vezes por semana, revelou ser altamente eficaz em suprimir o hiperparatiroidismo secundário nos doentes insuficientes renais crónicos em hemodiálise. Além disso este perfil de eficácia foi acompanhado por um perfil de grande segurança apesar do uso exclusivo dos sais de cálcio como agentes bloqueadores da absorção intestinal do fósforo.

Estas observações foram a base ,racional e científica, que conduziu aos estudos que são o tema central desta tese sobre o desenvolvimento da $1\alpha D_2$.

II - ESTUDOS SOBRE O DESENVOLVIMENTO DA 1-ALFA-HIDROXIVITAMINA D₂

A – ESTUDO NUM MODELO ANIMAL:

Estudo Comparativo de Toxicidade da 1-alfa-hidroxitamina D₂ com a 1-alfa-hidroxitamina D₃ Administradas por Via Oral, em Ratos.

I - INTRODUÇÃO

O conhecimento que se tem do problema que é objecto deste capítulo, é o que decorre de pequenos estudos pilotos realizados em modelos animais. Assim, sabe-se que em ratos, a 1 α D₂ parece ser quatro a cinco vezes menos tóxica do que a fórmula análoga da vitamina D₃, a 1 α D₃ que é usada clinicamente. Esta conclusão é tirada do uso de doses letais destes dois compostos e da observação das alterações por elas induzidas no aumento do peso corporal, e no teor do cálcio nos rins após administração das drogas durante quatro semanas (141).

Ora permanecia muito por saber, e isso justificou a investigação que realizámos. Para isso e também para se confirmar os resultados acima referidos, administraram-se por via oral 1 α D₂ e 1 α D₃ a ratos, machos, durante quatro semanas em doses de 0, 0.1, 0.5, 2.5 e 12.5 ug/kg/dia, e comparou-se a toxicidade. Num outro estudo realizado em separado, administraram-se por via oral 1 α D₂ e 1 α D₃ a ratos machos durante duas semanas em doses de 0, 0.5 e 2.5 ug/kg/dia, e determinaram-se as concentrações plasmáticas dos metabolitos activos de cada um dos compostos.

Ora permanecia muito por saber, e isso justificou a investigação que realizámos.

II - MATERIAL E MÉTODOS

1 - Os animais:

Utilizaram-se a 1 α D₂ e a 1 α D₃ fornecidas pela Bone Care International, inc., em Madison, Estado do Wisconsin, Estados Unidos da América. Usaram-se ratos machos “Sprague Dauley” para o estudo da toxicidade e também para o estudo dos níveis plasmáticos. Obtiveram-se cem ratos para o estudo de toxicidade e 120 ratos para o estudo dos níveis plasmáticos, com a idade de 5 semanas, e oriundos da Charles River Japan, Inc., e todos estes animais se aclimatizaram às condições ambientais durante uma semana. Foram seleccionados 90 animais para o estudo da toxicidade e 108 animais para o estudo dos níveis plasmáticos. Foram-se registando os sinais clínicos e o peso corporal. Para o estudo de toxicidade os animais foram distribuídos ao acaso em 9 grupos, cada um desses grupos constituído por 10 animais e 5 grupos, cada um constituído por 24 ou 21 animais, para o estudo dos níveis plasmáticos. Na formação dos grupos usou-se o método estratificado de randomização.

No início do estudo, os animais tinham 6 semanas e o seu peso oscilava entre 192 e 236 g.

Os animais foram alojados individualmente em gaiolas metálicas numa sala à temperatura de 23 ± 3 °C, uma humidade relativa de $55 \pm 15\%$, com renovação do ar 8 a 12 vezes/h e um ciclo de 12 horas luz/escuridão (luz acesa desde as 07.00h até às 19.00h). Era permitido aos animais um livre acesso à água e à dieta animal (em pó para laboratório).

2 - As Soluções farmacêuticas:

No estudo principal, foi preparada uma solução de 12,5 ug/ml de cada uma das drogas, diluindo-se as substâncias em óleo de coco. Soluções de 0,1, 0,5 e 2,5 ug/ml foram posteriormente preparadas, por diluições apropriadas daquela solução inicial de 12,5 ug/ml, sempre com óleo de coco. No estudo do nível do plasma, as soluções de 0,5 e 2,5 ug/ml também foram preparadas diluindo-se a solução de provisão com óleo de coco. Foi logo de início preparada uma solução em quantidade suficiente para ser usada vários dias (máx. 9 dias para 1 α D₂ e 4 dias para a 1 α D₃) e

depois foram mantidas em recipientes hermeticamente fechados em atmosfera de nitrogénio e mantidos à temperatura ambiente.

Seleccionaram-se os níveis das doses para o estudo da toxicidade com base num estudo sobre a toxicidade da $1\alpha D_3$ (148) e num relatório (141) em que tinha sido comparada a toxicidade da $1\alpha D_2$ e da $1\alpha D_3$. Os valores das doses a usar no estudo dos níveis a atingir no plasma foram fixados em 0,5 e 2,5 ug/kg/dia. Os animais de controlo receberam apenas o mesmo volume do veículo, ou seja, óleo de coco.

O volume da solução em cada administração foi 1 ml/kg/dia em cada grupo. Escolheu-se a via oral porque era esta a via pretendida na prática clínica. As soluções de cada dosagem foram administradas directamente para o estômago por meio de uma sonda, uma vez por dia, geralmente de manhã. O volume administrado a cada rato foi ajustado com base no peso corporal mais recente. O período de administração de cada dose foi de 4 semanas no estudo da toxicidade, e de 2 semanas no estudo dos níveis plasmáticos.

3 - Estudo da Toxicidade

Foram observados todos os animais relativamente à sobrevivência e sinais farmacotóxicos, uma vez por dia, de manhã, durante o período inicial de controlo de base, e pelo menos duas vezes por dia, antes e após as administrações das soluções, no período de tratamento. Além disso, realizou-se sempre um exame clínico rigoroso dos animais duas vezes por semana durante o período de tratamento.

Cada um dos animais foi pesado, usando-se uma balança de indicação electrónica, antes, no dia em que começaram as administrações, e posteriormente duas vezes por semana.

O peso da dieta dada ao animal e o peso da dieta que sobrava, foi determinado numa balança electrónica, em cada animal, uma vez por semana, e assim se calcularam os valores do consumo do alimento por semana.

A ingestão de água e a produção de urina relativamente a cinco animais em cada grupo foram medidas no 13º dia do período já em curso da administração regular dos fármacos. A ingestão de água foi calculada como sendo a diferença entre o peso da água fornecida após a administração e o peso da água que sobrava após 18 h. A produção de urina era calculada através do peso da urina recolhida durante 18 h. A água e a urina foram pesadas com uma balança electrónica.

Realizou-se uma análise de urina em 5 animais de cada grupo nos dias 3 e 27 do período de administração regular, e examinou-se a bioquímica urinária em todos os animais de cada grupo nos dias 15 e 27 da fase de ingestão gástrica das drogas. Recolheram-se amostras de urina de quatro horas (no período de controlo) que eram centrifugadas (1500 r.p.m., 5 min). Examinou-se o sobrenadante, usando-se a fita Multistix ®SG-L, Miles-Sankio Co., Ltd. e um analisador de urina automatizado (Clinitek®, Miles-Sankio Co., Ltd.). Determinaram-se os seguintes parâmetros: pH, glucose, proteína, sangue oculto, corpos cetónicos e urobilinogénio. O sedimento urinário foi fixado em formalina neutra a 20% e foi corado com o corante específico para o sedimento urinário (uri-cel®, Cambridge Chemical Products, Inc.), o que permitiu a contagem dos cilindros, das células epiteliais, dos leucócitos e dos eritrócitos ao microscópio. Na análise bioquímica urinária, determinaram-se os níveis de cálcio, fósforo inorgânico e creatinina com um analisador de bioquímica sanguínea automatizado (Hitachi 7150, Hitachi, Ltd.) e utilizando reagentes *standard* (wako Pure Chemical Industries, Ltd.).

Realizaram-se análises de bioquímica sanguínea em todos os animais. Tiraram-se amostras de sangue do seio orbital sob anestesia com éter antes da dosagem do dia 17, e determinaram-se os níveis de cálcio e fósforo plasmáticos. Após a administração gástrica da última dose, todos os animais foram submetidos a jejum durante cerca de 20 h, e foram-lhe retiradas amostras de sangue da aorta abdominal sob anestesia com éter, e centrifugadas a 7500 X g durante 10 min para se obter plasma para bioquímica sanguínea e a seguir foram pesados e exsanguinados. Em seguida

examinaram-se visualmente os órgãos viscerais, e pesaram-se com balanças electrónicas os seguintes órgãos: cérebro, coração, pulmões, fígado, rins, baço, timo, glândula pituitária, glândulas suprenais, testículos e próstata ventral. Calcularam-se os pesos relativos dos órgãos como percentagem do peso corporal.

Fixaram-se em formol a 10% os seguintes tecidos de todos os animais:

glândulas suprenais	glândulas salivares
cérebro	vesículos seminais
duodeno	pele
esófago	intestino delgado
globos oculares	espinha dorsal
fémur (com medula óssea)	baço
glândulas de Harder	esterno
coração	estômago
rins	testículos
intestino grosso	timo
fígado	glândula tiroideia e glândulas paratiroideias
pulmões	língua
glândulas mamárias	traqueia
bexiga	pâncreas
hipófise	

e outros órgãos ou tecidos revelando grandes alterações.

No caso dos animais dos dois grupos em que se utilizaram doses mais elevadas de $1\alpha D_2$ e $1\alpha D_3$, todos os tecidos e órgãos acima referidos foram embebidos em parafina, seccionados, corados com hematoxilina e eosina, e examinados ao microscópio. No caso dos animais dos grupos

em que foram administrados somente 0,5 ug/kg, examinaram-se ao microscópio o rim, o estômago, o esterno e o fêmur. No caso dos grupos em que foram administrados a menor dose de 0,1 ug/kg, os órgãos examinados foram o rim, o esterno e o fêmur.

4 - Estudo dos níveis plasmáticos:

Todos os animais foram observados diariamente (de manhã) quanto à sobrevivência e sinais farmacotóxicos durante o período de pré-tratamento e pelo menos duas vezes por dia (antes e após administração das doses) no período de tratamento.

Pesaram-se todos os animais, usando-se uma balança electrónica antes de começar a administração no dia de inicio do tratamento e posteriormente duas vezes por semana.

Determinou-se a concentração de metabolitos activos da vitamina D no plasma após a 1ª e 15ª dose. Colheram-se amostras de sangue da aorta abdominal de 3 dos animais nas seguintes ocasiões: antes da ingestão, às 4 h, às 8 h e às 24 h após a administração da 1ª e da 15ª dose no grupo de controlo, e nos grupos que receberam tratamento activo as amostras foram colhidas antes da administração das drogas, e depois às 4 h, às 8 h e às 24 h na 1ª dose e às 4h, 8h, e às 24h na 15ª dose. As amostras de sangue foram centrifugadas a 7500 X g durante 2 minutos para se obter plasma.

As concentrações plasmáticas dos metabolitos activos foram determinadas da seguinte forma: 1α -25-(OH)₂-D foram fraccionados numa coluna bondelute c18/OH, e separaram-se as fracções correspondentes de 1α -25-(OH)₂-D₂ e 1α -25-(OH)₂-D₃, usando cromatografia liquida de alta pressão (HPLC) e determinaram-se as respectivas concentrações, usando-se um Kit de ensaio de 1α -25-(OH)₂-D (Nicholas Institute Co.).

5 - Análise Estatística

Os dados apresentados são os valores das médias com os desvios padrões. Os dados sobre

peso corporal, consumo alimentar, ingestão da água e produção da urina, bioquímica urinária e sanguínea, peso dos órgãos e níveis plasmáticos da totalidade dos metabolitos activos (AUC) foram analisados estatisticamente, segundo a seguinte estratégia: Primeiramente, provava-se a homogeneidade de variância pelo método de Bartlett . Se as variâncias fossem homogêneas, aplica-se uma análise de variância de uma via. Quando os resultados indicavam uma diferença significativa entre os grupos, usámos o método de Dunnett quando as tamanhos das amostras eram iguais, ou utilizamos o método de Scheffé, quando o tamanho das amostras eram desiguais, realizava-se uma comparação de cada uma das médias do grupo de dosagem simultaneamente com o grupo de controlo. Se as variâncias fossem heterogêneas, utilizávamos o método de Kruskal-Wamentes. Quando os resultados indicavam uma diferença significativa entre os grupos, comparavam-se as médias do grupo de ratos tratados com as do grupo de controlo, utilizando-se o método de Dunnett (quando os tamanhos das amostras eram iguais) ou o método de Scheffé (quando os tamanhos das amostras eram desiguais). Além disso, na análise dos valores do cálcio e do fósforo inorgânico urinários e plasmáticos (após transformação dos seus valores em logaritmo) e os valores dos níveis plasmáticos dos metabolitos activos, utilizámos o método de Aspen & Welch t , quando as diferenças foram significativas entre os grupos, ou o ensaio de Student-T quando as variâncias eram homogêneas, e sempre com a finalidade de se compararem cada uma das médias dos grupos de animais tratados com a 1α -25-(OH)₂-D₂ com as médias dos grupos de animais tratados com a 1α -25-(OH)₂-D₃ , comparação essa naturalmente sempre entre os grupos que receberam a mesma dose de cada uma das drogas.

Em todos os cálculos estatísticos se adoptaram como significativos os valores de $P < 0,05$.

III - RESULTADOS

No estudo principal, observou-se uma deterioração do estado geral com perda de peso significativa ao fim das 3ª e 4ª semanas nos grupos de animais que receberam 12,5 ug/kg de $1\alpha D_2$ ou de $1\alpha D_3$. Por outro lado, em todos os grupos, reconheceram-se alterações nos olhos, tais como opacidade da córnea, cataratas ou exoftalmia após a 3ª semana. Estas alterações foram atribuídas á colheita de sangue realizada no 17º dia. Não houve quaisquer anormalidades verificáveis clinicamente em qualquer um dos grupos do estudo dos níveis plasmáticos.

Não morreu nenhum animal durante o estudo da toxicidade das drogas ou durante o estudo dos níveis plasmáticos dos metabolitos.

No estudo da toxicidade, o aumento de peso corporal baixou significativamente nos grupos tratados em comparação com o grupo de controlo. Assim, nos animais que receberam 12,5 ug/kg de $1\alpha D_2$ a diferença no peso corporal já foi significativa comparada com o grupo de controlo a partir do 7º dia de administração, e esta diferença aumentou até ao dia 28 (287 ± 44 gm com $1\alpha D_2$ VS 371 ± 33 gm com placebo no 28º dia). Nos animais que receberam 12,5 ug/kg de $1\alpha D_3$, também se verificou a mesma diferença de peso corporal entre o 7º dia e o 28º dia quando comparados com o grupo placebo (225 ± 36 gm com $1\alpha D_2$ VS 371 ± 33 gm com placebo no 28º dia). Esta alteração foi menor no grupo tratado com a $1\alpha D_2$ do que no grupo que recebeu $1\alpha D_3$. O peso corporal também teve tendência a diminuir no grupo que recebeu 2,5 ug/kg de $1\alpha D_3$ quando comparado com o grupo placebo (341 ± 29 gm com $1\alpha D_3$ VS 371 ± 33 gm com placebo no 28º dia).

No estudo dos níveis plasmáticos, o peso corporal foi significativamente diminuído apenas no grupo que recebeu 2,5 ug/kg de $1\alpha D_3$ em comparação com o controlo (276 ± 13 gm com $1\alpha D_3$ VS 308 ± 18 gm com placebo no 14º dia).

O consumo alimentar diminuiu significativamente em alguns dos grupos tratados em

comparação com o grupo de controlo. Assim aconteceu nos grupos em que os animais receberam 12,5 ug/kgm de $1\alpha D_2$ (na 4ª semana, 127 ± 34 com $1\alpha D_2$ VS 164 ± 18 g com placebo) e no grupo dos que receberam a mesma dose de $1\alpha D_3$ (na 4ª semana, 75 ± 26 com $1\alpha D_3$ VS 164 ± 18 g com placebo). A variação foi menor com a $1\alpha D_2$ do que com a $1\alpha D_3$.

A ingestão de água e a produção de urina tiveram tendência a aumentar nos grupos que receberam 12,5 ug/kg de $1\alpha D_2$ ou de $1\alpha D_3$, embora estas alterações não tivessem sido estatisticamente significativas quando comparadas com o grupo de control. O pH da urina baixou nos grupos que receberam 2,5 ug/kg, ou mais, de $1\alpha D_2$ ou $1\alpha D_3$ a partir do 3º dia; e nos grupos que receberam 0,5 ug/kg, ou mais, de $1\alpha D_3$ no dia 27. Não houve alterações no sedimento urinário.

A bioquímica urinaria revelou no 15º dia do estudo uma excreção de cálcio que estava significativamente aumentada em comparação com o grupo de controlo nos animais que recebiam 0,5 ug/kg, ou mais, de $1\alpha D_2$ ou de $1\alpha D_3$, e uma excreção de fósforo inorgânico significativamente aumentada nos grupos que recebiam 2,5 ug/kg, ou mais, de qualquer um dos compostos; estas alterações foram significativamente menores com a $1\alpha D_2$ do que com a $1\alpha D_3$. Além disso, o cálcio urinário no grupo que recebeu 0,1 ug/kg de $1\alpha D_3$ também foi significativamente mais alto do que no grupo dos animais que receberam a mesma dose de $1\alpha D_2$. No 27º dia, o cálcio urinário e o fósforo inorgânico estavam significativamente aumentados, em comparação com o grupo de controlo, nos grupos que recebiam 0,5 ug/kg ou mais de $1\alpha D_2$ e em todos os grupos que receberam $1\alpha D_3$. O aumento do cálcio e fósforo inorgânico urinário foi significativamente menor com 0,5 e 2,5 ug/kg de $1\alpha D_2$ do que com a mesma dose de $1\alpha D_3$ (Quadro II-1 e II-2).

Quadro II-1: Bioquímica urinária, dia 15.

Grupo	Número de animais	Creatinina (mg/dl)	Cálcio (mg/mg)	Fósforo (mg/mg)
Controlo	10	59.3 ± 13.2	0.080 ± 0.023	2.01 ± 0.54
1 α D ₂ , 0.1 ug/kg	10	55.2 ± 13.3	0.093 ± 0.043	1.63 ± 0.34
1 α D ₂ , 0.5 ug/kg	10	52.1 ± 17.6	0.405 ± 0.186	2.52 ± 0.51
1 α D ₂ , 2.5 ug/kg	10	44.5 ± 11.9	1.652 ± 0.301**	3.59 ± 0.64*
1 α D ₂ , 12.5 ug/kg	10	36.1 ± 13.5**	2.654 ± 0.462**	5.52 ± 1.01**
1 α D ₃ , 0.1 ug/kg	10	60.0 ± 12.4	0.187 ± 0.149	1.92 ± 0.67
1 α D ₃ , 0.5 ug/kg	10	61.2 ± 16.7	0.944 ± 0.419*	2.68 ± 0.23
1 α D ₃ , 2.5 ug/kg	10	40.8 ± 65*	2.276 ± 0.416**	4.54 ± 0.60**
1 α D ₃ , 12.5 ug/kg	10	31.4 ± 8.0**	2.935 ± 0.581**	5.51 ± 0.90**

Os valores da creatinina, do cálcio e do fósforo são médias ± o Desvio Padrão (média ± DP).

* Significativamente diferente do controlo, $p < 0.05$.

** Significativamente diferente do controlo, $p < 0.01$.

Quadro II-2: Bioquímica urinaria, dia 27.

Grupo	Número de animais	Creatinina (mg/dl)	Cálcio (mg/mg)	Fósforo (mg/mg)
Control	10	67.6 ± 24.1	0.070 ± 0.024	0.90 ± 0.22
1 α D ₂ , 0.1 ug/kg	10	71.9 ± 24.4	0.069 ± 0.029	1.03 ± 0.46
1 α D ₂ , 0.5 ug/kg	10	62.2 ± 15.6	0.534 ± 0.331	1.66 ± 0.54
1 α D ₂ , 2.5 ug/kg	10	46.3 ± 11.3	1.522 ± 0.233**	2.91 ± 0.37**
1 α D ₂ , 12.5 ug/kg	10	39.9 ± 11.8*	2.239 ± 0.624**	3.93 ± 1.15**
1 α D ₃ , 0.1 ug/kg	10	62.1 ± 12.0	0.293 ± 0.210	1.73 ± 0.49
1 α D ₃ , 0.5 ug/kg	10	58.9 ± 16.8	1.457 ± 0.440**	2.67 ± 0.57**
1 α D ₃ , 2.5 ug/kg	10	45.0 ± 19.6*	2.211 ± 0.504**	3.78 ± 0.76**
1 α D ₃ , 12.5 ug/kg	10	30.0 ± 8.5**	2.550 ± 0.738**	4.31 ± 1.23**

Os valores da creatinina, do cálcio e do fósforo são as médias \pm o Desvio Padrão (DP).

* Significativamente diferente do controle, $p < 0.05$.

** Significativamente diferente do controle, $p < 0.01$.

No dia 17 e no dia após a última dose, os níveis séricos cálcio estavam significativamente aumentados, em comparação com o grupo de controle, nos grupos a receberem 2,5 ug/kg, ou mais, de 1 α D₂ e nos grupos a receberem 0,5 ug/kg, ou mais, de 1 α D₃ (Quadro II-3). Os níveis séricos de fósforo estavam diminuídos no grupo em que os ratos receberam 12,5 ug/kg de 1 α D₂ ou de 1 α D₃. O aumento dos níveis séricos de cálcio nos grupos doseados com 2,5 e 12,5 ug/kg de ambos os

derivados da vitamina D no 17º dia, e o aumento dos níveis séricos de cálcio nos grupos doseados com 2,5 ug/kg de ambos os derivados, e a diminuição dos níveis séricos de fósforo com 12,5 ug/kg após a última dose de ambos os compostos, foram menores nos animais a receberem $1\alpha\text{D}_2$ em comparação com os animais a receberem $1\alpha\text{D}_3$.

Quadro II-3: Níveis séricos de cálcio e fósforo no dia 17.

Grupo	Número de animais	Cálcio (mg/dl)	Fósforo (mg/dl)
Controlo	10	9.78 ± 0.34	8.4 ± 0.4
$1\alpha\text{D}_2$, 0.1 ug/kg	10	10.01 ± 0.20	8.3 ± 0.4
$1\alpha\text{D}_2$, 0.5 ug/kg	10	9.99 ± 0.39	8.5 ± 0.3
$1\alpha\text{D}_2$, 2.5 ug/kg	10	11.06 ± 0.30**	8.1 ± 0.4
$1\alpha\text{D}_2$, 12.5 ug/kg	10	12.91 ± 0.56**	7.3 ± 0.4**
$1\alpha\text{D}_3$, 0.1 ug/kg	10	10.05 ± 0.32	8.2 ± 0.6
$1\alpha\text{D}_3$, 0.5 ug/kg	10	10.40 ± 0.41**	8.6 ± 0.4
$1\alpha\text{D}_3$, 2.5 ug/kg	10	11.62 ± 0.42**	8.2 ± 0.3
$1\alpha\text{D}_3$, 12.5 ug/kg	10	13.29 ± 0.50**	7.1 ± 0.4**

Os valores do cálcio e do fósforo são as médias ± o Desvio Padrão (DP).

** Significativamente diferente do controlo, $p < 0,01$.

O exame macroscópico dos órgãos revelou as seguintes alterações patológicas que se

consideraram estar relacionadas com os fármacos. Observou-se uma ligeira descoloração do rim em 4 dos animais que receberam 12,5 ug/kg de $1\alpha D_2$ e em 9 dos que receberam $1\alpha D_3$. Na superfície de corte do órgão, notaram-se focos brancos espalhados ou concentrados em 5 dos animais que receberam 12,5 ug/kg de $1\alpha D_2$ e em 8 dos que receberam $1\alpha D_3$. Além disso, observou-se uma atrofia dos seguintes órgãos: próstata em 8 animais, vesículos seminais em 5 animais, timo em 5 animais, fígado em 2 animais, baço e testículos em 1 animal cada, animais estes pertencentes aos grupos que receberam 12,5 ug/kg de $1\alpha D_3$. Observou-se, por outro lado, a atrofia da próstata e vesícula seminal num só animal que recebeu 12,5 ug/kg de $1\alpha D_2$.

O peso da próstata ventral estava significativamente diminuído em comparação com o grupo de controlo nos animais que receberam 12,5 ug/kg de $1\alpha D_2$ ou $1\alpha D_3$ ($252,0 \pm 88,7$ mg e $146,5 \pm 71,7$ mg, respectivamente) em comparação com $450 \pm 74,5$ mg no grupo de controlo. Observaram-se algumas outras alterações estatisticamente significativas em alguns órgãos, mas considerou-se que as alterações se deviam ao peso corporal diminuído ou que estavam dentro dos limites normais aceitáveis de variabilidade fisiológica.

Ao exame histopatológico, observaram-se calcificações dos túbulos renais ao nível do córtex e da medula renal em todos os grupos, incluindo o de controlo. No entanto, essas calcificações nos grupos que receberam 2,5 ug/kg, ou mais, de $1\alpha D_2$ e nos grupos que receberam 2,5 ug/kg, ou mais, de $1\alpha D_3$ eram mais graves do que as do grupo de controlo, e observou-se uma degeneração dos túbulos renais com calcificação na medula externa em alguns animais. No estômago, observaram-se calcificações da mucosa nos animais que receberam 2,5 ug/kg, ou mais, de $1\alpha D_3$ e nos animais que receberam 12,5 ug/kg de $1\alpha D_2$. As calcificações verificaram-se ainda noutros tecidos. Assim, no grupo que recebeu 12,5 ug/kg, observaram-se calcificações da parede das artérias da língua em 4 dos animais que receberam $1\alpha D_2$ e em 8 dos animais que receberam $1\alpha D_3$; também se observaram calcificação do miocárdio em 2 dos animais que receberam $1\alpha D_2$ e em 5 dos animais que receberam $1\alpha D_3$. Observaram-se ainda calcificações na córnea, na parede

das arterias das glândulas salivares ou na submucosa da traqueia num pequeno número de animais.

No esqueleto observaram-se as seguintes alterações. No Fémur: Nos animais que receberam $1\alpha\text{D}_2$ ou $1\alpha\text{D}_3$, observou-se proliferação do osso trabecular na metáfise e epífise, e em alguns deles o espaço medular foi substituído por osso trabecular de formação recente, tendo havido diminuição da quantidade de osteoclastos na metáfise. O osso trabecular de formação recente corou heterogeneamente e a maior parte dessa coloração era tecido osteóide ligeiramente corado pela eosina. Notaram-se estas alterações em todos os animais que receberam 12,5 ug/kg de $1\alpha\text{D}_2$ ou $1\alpha\text{D}_3$, em 9 animais que receberam $1\alpha\text{D}_2$ e em todos os animais que receberam $1\alpha\text{D}_3$ na dose de 2,5 ug/kg, em 2 animais que receberam $1\alpha\text{D}_2$ e 6 animais que receberam $1\alpha\text{D}_3$ na dose de 0,5 ug/kg, e em 2 animais que receberam $1\alpha\text{D}_3$ na dose de 0,1 ug/kg.

No osso cortical, observou-se uma hipertrofia dos osteocitos e uma diminuição da coloração pela de hematoxilina da matriz óssea. Em alguns dos animais que apresentavam estas alterações, observaram-se dilatações dos canais haversianos e hipertrofia dos osteoblastos ao longo da cavidade medular. Estas alterações foram observadas em todos os animais que receberam 12,5 ug/kg de $1\alpha\text{D}_2$ ou $1\alpha\text{D}_3$ e em 5 animais que receberam 2,5 ug/kg de $1\alpha\text{D}_3$.

No Esterno, as alterações foram semelhantes às do fémur. Observou-se uma proliferação do osso trabecular e uma diminuição do número de osteoclastos em todos os animais que receberam 12,5 ug/kg de $1\alpha\text{D}_2$ ou $1\alpha\text{D}_3$, em 7 dos animais que receberam $1\alpha\text{D}_2$ e em todos os animais que receberam $1\alpha\text{D}_3$ na dose de 2,5 ug/kg e em 2 dos animais que receberam $1\alpha\text{D}_3$ na dose de 0,5 ug/kg. Observou-se no osso cortical, hipertrofia dos osteocitos, diminuição da coloração pela hematoxilina da matriz ossea, dilatações dos canais haversianos ou formação de cavidade medular em todos os animais que receberam 12,5 ug/kg de $1\alpha\text{D}_2$ ou $1\alpha\text{D}_3$ e em 8 dos animais que receberam 2,5 ug/kg de $1\alpha\text{D}_3$.

B - Concentração dos metabolitos activos no plasma.

Foram medidos os níveis plasmáticos do metabolito activo da vitamina D₂, 1 α ,25-(OH)₂-D₂, e o metabolito activo da vitamina D₃ a 1 α ,25-(OH)₂-D₃. No grupo de controlo, os níveis plasmáticos de 1 α ,25-(OH)₂-D₂ foram inferiores aos de 1 α ,25-(OH)₂-D₃. Os níveis plasmáticos de cada metabolito activo aumentaram proporcionalmente à dose administrada de 1 α D₂ ou de 1 α D₃ em doses de 0,5 e 2,5 ug/kg/dia. O aumento dos níveis plasmáticos de 1 α ,25-(OH)₂-D₂ após a administração de 1 α D₂ foi menor do que o aumento nos níveis plasmáticos de 1 α ,25-(OH)₂-D₃ após a administração de 1 α D₃. Além disso, os níveis plasmáticos da totalidade dos metabolitos activos (1 α ,25-(OH)₂-D₂ + 1 α ,25-(OH)₂-D₃) após a administração de 1 α D₂ estavam menos aumentados do que após a administração de 1 α D₃. Ambos os metabolitos activos foram detectados no plasma após a primeira dose de 1 α D₂ ou 1 α D₃. Após a 15^a dose, no entanto, os níveis de plasma de 1 α ,25-(OH)₂-D₃ após administração de 1 α D₂ e os níveis de 1 α ,25-(OH)₂-D₂ após administração de 1 α D₃ não foram detectáveis.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Neste estudo administraram-se a 1 α D₂ e a 1 α D₃ por via oral a ratos durante quatro semanas nas doses de 0,1, 0,5, 2,5 e 12,5 ug/kg/dia, e comparou-se a toxicidade entre si e em relação ao grupo de controlo.

Todas as descobertas realizadas nos grupos que receberam 1 α D₂ foram observadas nos grupos que receberam 1 α D₃. Em ambos os grupos que receberam 1 α D₂ e 1 α D₃, observou-se uma diminuição do consumo alimentar e um aumento de peso corporal, uma tendência para um aumento da produção de urina e na ingestão de água, hipercalciuria, hiperfosfaturia, hipercalcemia e

hipofosfatemia. Nos exames histopatológicos, observaram-se as seguintes alterações: uma proliferação do osso trabecular nas metáfises e nas epífises, uma diminuição do número de osteoclastos na metáfise, uma hipertrofia dos osteocitos, a dilatação do canal de Havers e a formação da cavidade medular no osso cortical. No rim, observaram-se calcificações tubulares ao nível do córtex e da medula, e também degenerescência dos túbulos com calcificações. No estômago, observou-se calcificação na mucosa do fundo gástrico.

Considerou-se que estas alterações se deveram às acções farmacológicas dos metabolitos da vitamina D administrados ($1\alpha D_2$ e $1\alpha D_3$). O aumento dos níveis de cálcio urinário deveu-se à estimulação da absorção do cálcio ao nível do intestino e à mobilização do cálcio do osso e produzida pela $1\alpha D$ (141) e à consequente inibição da secreção de PTH (149). Tem sido sugerido que a vitamina $1\alpha D$ aumenta a excreção do fósforo pelo rim quando os ratos estão hiperfosfatémicos, mas o composto em causa aumenta a reabsorção de fósforo mesmo quando os ratos estão hipofosfatémicos (150,151). Assim, a hiperfosfatúria e a hipofosfatemia observadas neste estudo podem dever-se a efeitos da $1\alpha D$ sobre a excreção do fósforo independentemente dos seus níveis séricos e por razões a esclarecer. A diminuição do pH urinário será o resultado da hiperfosfatúria. A tendência para o aumento do volume urinário, para além do aumento da ingestão de água, resulta da deterioração da capacidade renal de concentrar urina e causada pela hiper calciúria. Hoje, sabe-se que este efeito é devido à inibição da acção da hormona anti-diurética sobre as células do tubulo colector medular e é mediada pelos receptores de cálcio presentes no lado basal e luminal destas células (111).

Ao exame histopatológico, observaram-se calcificações em vários órgãos tais como rim, estômago e coração. Isto deve-se á hiper calcemia, e no caso do rim o desenvolvimento da hiper calciúria e da hiper fosfatúria são certamente também causas adicionais para estas calcificações. No osso, observou-se uma proliferação do osso trabecular. Além disso, notaram-se alterações indicando reabsorção ao nível dos ossos tais como a dilatação do canal de Havers e a

hipertrofia dos osteócitos nos grupos que receberam as doses mais elevadas. Estudos prévios sugeriram que os efeitos da vitamina D sobre a reabsorção óssea e a formação óssea são diferentes consoante os animais estão repletos em vitamina D, ou pelo contrário tem uma depleção de vitamina D. Nos animais com depleção de vitamina D, a administração desta vitamina promove a mineralização óssea. Pelo contrário, nos animais já repletos de Vitamina D, a administração desta vitamina estimula a reabsorção óssea e a proliferação dos osteoclastos, o que se considera conduzir à deterioração da mineralização óssea (152,153,154). Por isso, parece legítimo concluir-se que as alterações no osso reconhecidas neste estudo indicam uma acção directa da Vitamina D no metabolismo ósseo.

Como atrás foi referido, as alterações observadas neste estudo da toxicidade foram as mesmas nos grupos que receberam $1\alpha\text{D}_2$ e $1\alpha\text{D}_3$. No entanto, as doses usadas em que se notaram estas alterações, o grau dessas lesões e a sua incidência foram claramente diferentes nos dois compostos usados. Observou-se uma maior diminuição do peso corporal ou uma tendência para a tal, nos grupos de ratos que receberam 2,5 ug/kg, ou mais, de $1\alpha\text{D}_3$ em comparação com os animais que receberam $1\alpha\text{D}_2$ e em que esta alteração só se deu no grupo que recebeu 12,5 ug/kg. Verificaram-se hipercalciúria e hiperfosfatúria em todos os grupos que receberam $1\alpha\text{D}_3$ e só nos grupos que receberam 0,5 ug/kg, ou mais, de $1\alpha\text{D}_2$. Pode pois dizer-se que as alterações observadas com 0,5 e 2,5 ug/kg de $1\alpha\text{D}_2$ foram menores do que as observadas com as mesmas doses de $1\alpha\text{D}_3$. Também se notou hipercalcemia nos grupos que receberam 0,5 ug/kg ou mais de $1\alpha\text{D}_3$ e só nos grupos que receberam 2,5 ug/kg, ou mais, de $1\alpha\text{D}_2$. A subida dos níveis de cálcio observada com a administração de 2,5 e 12,5 ug/kg de $1\alpha\text{D}_2$ foi menor do que a subida observada com as mesmas doses de $1\alpha\text{D}_3$. No exame histopatológico, observaram-se calcificação e degenerescência dos túbulos renais nos grupos que receberam 0,5 ug/kg, ou mais, de $1\alpha\text{D}_3$ e só nos grupos que receberam 2,5 ug/kg, ou mais, de $1\alpha\text{D}_2$. No osso, observou-se uma proliferação do osso trabecular em todos os grupos que receberam $1\alpha\text{D}_3$ e só nos grupos que receberam 0,5 ug/kg,

ou mais, de $1\alpha D_2$. Observou-se hipertrofia dos osteocitos ou dilatação dos canais de Havers nos grupos que receberam 2,5 ug/kg, ou mais, de $1\alpha D_3$ e só no grupo que recebeu 12,5 ug/kg de $1\alpha D_2$. Além disso, o grau e a incidência das calcificações observadas nos outros tecidos com a maior dose utilizada pode dizer-se que foram menores no grupo que recebeu $1\alpha D_2$ em comparação com o grupo que recebeu $1\alpha D_3$. Estes resultados estão de acordo com os resultados de G. Sjöden et al. (141), indicando, em termos gerais que a $1\alpha D_2$ é cerca de 5 vezes menos tóxico do que a $1\alpha D_3$.

As razões para a diferença na intensidade da toxicidade da $1\alpha D_2$ e da $1\alpha D_3$ são ainda obscuras tendo em vista o facto de que os dois compostos parecem ser igualmente potentes na maior parte dos sistemas que respondem à vitamina D, tais como estimulação do transporte do cálcio intestinal e na mobilização de cálcio do osso (140,141,142). No entanto uma extensa revisão dos possíveis mecanismos para esta diferença na toxicidade é feita na discussão final dos estudos no homem. No estudo dos níveis plasmáticos em que foram administradas por via oral a $1\alpha D_2$ e a $1\alpha D_3$ a ratos, machos, durante duas semanas em doses de 0,5 e 2,5 ug/kg/dia, com um grupo de controlo, determinaram-se as concentrações plasmáticas dos metabolitos activos de cada composto, e os níveis alcançados de cada metabolito activo após cada dose foram proporcionados a essas doses. O aumento dos níveis plasmáticos da totalidade dos metabolitos activos após a administração de $1\alpha D_3$ foi maior do que após a administração de $1\alpha D_2$. O grau da diferença nos níveis plasmáticos da totalidade dos metabolitos activos da $1\alpha D_2$ e $1\alpha D_3$ foi semelhante às diferenças do cálcio urinário ou plasmático verificadas quando os dois compostos foram usados nas doses de 0,5 e 2,5 ug/kg na semana 2. Continua sem se saber qual a causa desta diferença nos níveis plasmáticos dos metabolitos activos dos dois compostos usados. Essa causa pode ser a diferença na cinética da absorção destes dois compostos ($1\alpha D_2$ e $1\alpha D_3$) ou a desigualdade na produção dos respectivos metabolitos activos a partir de cada um deles, seja no ritmo da sua síntese, na sua dinâmica metabólica ou na velocidade da respectiva excreção. No entanto, seja qual for, esta diferença pode ser uma das razões para a desigual toxicidade que manifestam.

Estes nossos resultados confirmam e ampliam a ideia de que a $1\alpha D_2$ menos tóxica do que a $1\alpha D_3$.

**B - ESTUDOS NO HOMEM SOBRE A SEGURANÇA E EFICÁCIA DA 1 α (OH)-
VITAMINA D₂ PARA O TRATAMENTO DO HIPERPARATIROIDISMO
SECUNDÁRIO NO DOENTE EM HEMODIÁLISE.**

**ESTUDO 1: Eficácia e Segurança da 1 α (OH)-Vitamina D₂, por via oral intermitente, no
Tratamento de Hiperparatiroidismo Secundário em Doentes
Hemodialisados (Adaptado de Frazao JM et al. Diálise Transplantação 1997 (155)).**

I - INTRODUÇÃO

A 1 α -Hidroxi-vitamina D₂ (1 α D₂) foi recentemente descoberta como sendo eficaz numa pequena população de doentes sujeitos a hemodiálise com hiperparatiroidismo secundário quando administrada em doses de 4 ug/dia ou de 4 ug/3 vezes por semana no fim da hemodiálise, com pouca hipercalcemia ou hiperfosfatemia (147). Este estudo aqui apresentado teve como finalidade avaliar a eficácia e a segurança de uma dose oral mais elevada de de 1 α D₂, 10 ug administrada 3 vezes por semana no final da hemodiálise e comparar os resultados com os do esquema anterior de dosagem nos mesmos doentes que tinham participado no estudo piloto anterior realizado pelo meu grupo de trabalho (147).

II - MATERIAL E MÉTODOS

1 - A população de doentes

Os dez doentes que participaram neste estudo foram também o objecto num estudo anterior

Estes nossos resultados confirmam e ampliam a ideia de que a $1\alpha D_2$ menos tóxica do que a $1\alpha D_3$.

**B - ESTUDOS NO HOMEM SOBRE A SEGURANÇA E EFICÁCIA DA 1 α (OH)-
VITAMINA D₂ PARA O TRATAMENTO DO HIPERPARATIROIDISMO
SECUNDÁRIO NO DOENTE EM HEMODIÁLISE.**

**ESTUDO 1: Eficácia e Segurança da 1 α (OH)-Vitamina D₂, por via oral intermitente, no
Tratamento de Hiperparatiroidismo Secundário em Doentes
Hemodialisados (Adaptado de Frazao JM et al. Diálise Transplantação 1997 (155)).**

I - INTRODUÇÃO

A 1 α -Hidroxi-vitamina D₂ (1 α D₂) foi recentemente descoberta como sendo eficaz numa pequena população de doentes sujeitos a hemodiálise com hiperparatiroidismo secundário quando administrada em doses de 4 ug/dia ou de 4 ug/3 vezes por semana no fim da hemodiálise, com pouca hipercalcemia ou hiperfosfatemia (147). Este estudo aqui apresentado teve como finalidade avaliar a eficácia e a segurança de uma dose oral mais elevada de de 1 α D₂, 10 ug administrada 3 vezes por semana no final da hemodiálise e comparar os resultados com os do esquema anterior de dosagem nos mesmos doentes que tinham participado no estudo piloto anterior realizado pelo meu grupo de trabalho (147).

II - MATERIAL E MÉTODOS

1 - A população de doentes

Os dez doentes que participaram neste estudo foram também o objecto num estudo anterior

sobre a segurança e eficácia da $1\alpha D_2$ em doentes em hemodiálise (147). Estes doentes tinham um hiperparatiroidismo secundário de moderado a grave, definido como tendo um nível sérico de PTH intacta superior a 400 pg/ml, e foram recrutados no West Los Angeles VA medical Center e na BMA Culver City Dialysis Unit. Nove doentes eram homens e 1 era mulher; as suas idades oscilavam entre 27 e 72 anos e estavam em diálise desde há meses (entre 4 e 116 meses).

Cada um dos doentes participou em dois estudos que foram separados por um período de tempo de 2 a 6 meses. A comissão de ética para os estudos humanos em cada uma das instituições aprovou os protocolos para ambos os estudos, e obteve-se consentimento informado de cada doente. Ambos os protocolos consistiam num período basal de 8 semanas seguido de um período de tratamento com uma duração até 12 semanas. No Protocolo 1, foi dada $1\alpha D_2$ numa dose de 4 ug diariamente (6 doentes) ou três vezes por semana, após cada hemodiálise (4 doentes). No Protocolo 2, a $1\alpha D_2$, foi administrada na dose de 10 ug, após cada diálise (10 doentes). Os critérios para inclusão no período basal do estudo foram: (1) uma duração de hemodiálise superior a 4 meses; (2) a prova de existir um valor de PTH intacta superior a 400 pg/ml sem terapêutica com calcitriol, (3) um nível sérico de albumina superior a 3,5 gm/dl, (4) um nível médio sérico de fósforo entre os 3,0 e os 6.9 mg/dl durante os 2 meses prévios, (5) ausência de ingestão de quelantes de fósforo contendo alumínio durante os 12 meses prévios, e (6) um nível sérico de alumínio inferior a 40 ug/ml.

Os critérios para exclusão incluíram: (1) qualquer situação médica subjacente, como um síndrome de má absorção intestinal ou uma doença grave do fígado, que pudessem alterar a absorção ou o metabolismo da $1\alpha D_2$, (2) e qualquer outra condição, como abuso do álcool/drogas, doença maligna, ou distúrbio psiquiátrico, que poderiam levar o doente a interromper o estudo após a sua integração nêle, e (3) ter havido cirurgia de paratiroidectomia nos 12 meses anteriores.

Durante as 8 semanas do período basal, a terapia com calcitriol foi suspensa. Os doentes foram submetidos a hemodiálise durante 3 a 4 horas, três vezes/semana, utilizando-se uma

concentração de cálcio no dialisante de 2,5 mEq/l. O Carbonato de cálcio e/ou acetato de Ca foram os únicos agentes quelantes do fósforo utilizados. Ao completar-se o período basal, os doentes entravam na fase de tratamento de 12 semanas, se : 1) um nível sérico de PTH intacta excedesse os 400 pg/ml durante o período basal, e 2) se os níveis séricos médios do fósforo fossem inferiores ou iguais a 6.9 mg/dl durante esse período basal.

2 - As dosagens de $1\alpha D_2$ e o seu ajustamento

Os doentes do Protocolo 1 receberam $1\alpha D_2$ oralmente, inicialmente 4 ug todas as manhãs ou 4 ug, 3 vezes por semana no fim da hemodiálise. A dose inicial dependia de vários factores, incluindo o nível séricos de PTH intacta durante o período basal, e/ou uma história de tratamento anterior com elevadas doses de calcitriol. Seguidamente, a dose de $1\alpha D_2$ foi ajustada para se obter um nível sérico de PTH intacta dentro dos seguintes limites, 130 a 250 pg/ml. Os ajustamentos de dosagem estão apresentados no Quadro II-4.

No segundo protocolo, parava-se com a dose de $1\alpha D_2$ se os níveis de PTH intacta descessem abaixo de 100 pg/ml; os níveis de PTH intacta eram então vigiados semanalmente até subirem acima de 100 pg/ml, após o que estava terminada a participação do doente no estudo.

Em ambos os protocolos, o tratamento com $1\alpha D_2$ foi temporariamente interrompido para doentes que desenvolveram hipercalcemia marcada, definida como um nível sérico de cálcio superior a 11.2 mg/dl (Protocolo 1) ou 11,4 mg/dl (Protocolo 2), ou hiperfosfatemia marcada definida como um nível sérico de fósforo superior a 8,0 mg/dl. Quando isto acontecia, eram vigiados os níveis séricos de Ca e de P antes de se proceder a cada hemodiálise até que o níveis de Ca descessem para valores inferiores ou iguais a 10,2 mg/dl ou os níveis de P descessem para valores inferiores ou iguais a 6.9 mg/dl; depois disso, o tratamento com $1\alpha D_2$ era reiniciado numa dose mais reduzida (Quadro II-4).

Quadro II-4: Níveis de dosagem com $1\alpha\text{D}_2$

PROTOCOLO 1

PROTOCOLO 2

Nível de Dosagem	Regime	Dose semanal (ug)	Regime	Dose semanal (ug)
Dosagem inicial	4 ug/dia, antes do pequeno almoço	28	10 ug três vezes por semana, após hemodiálise	30
1ª redução	4 ug três vezes por semana, após hemodiálise	12	8 ug três vezes por semana, após hemodiálise	24
2ª redução	4 ug duas vezes por semana, após hemodiálise	8	5 ug três vezes por semana, após hemodiálise	15
3ª redução	4 ug uma vez por semana, após hemodiálise	4	3 ug três vezes por semana, após hemodiálise	9

No caso de um doente desenvolver hipercalcemia ligeira, definida por um nível sérico de Ca entre 10,3 e 11,2 mg/dl (Protocolo 1) ou entre 10,3 e 11,4 mg/dl (Protocolo 2) e os níveis séricos de P serem inferiores a 6,9 mg/dl, a dose de quelantes de fósforo era reduzida. Numa situação de hiperfosfatemia ligeira, definida por um nível sérico de P entre 7,0 e 8,0 mg/dl, na presença de um nível sérico de Ca igual ou inferior a 10,2 mg/dl, a dose de quelantes do fósforo era aumentada. Se apesar destas medidas houvesse persistência da hipercalcemia ou hiperfosfatemia ligeiras, então era reduzida de $1\alpha\text{D}_2$ (Quadro II-4).

3 - A Fundamentação Bioquímica

Durante o período basal de observação, os níveis séricos de Ca e de P foram medidos semanalmente, e os níveis séricos de PTH intacta foram medidos uma ou duas vezes por semana. Todas as amostras de sangue foram obtidas imediatamente antes da hemodiálise, e analisadas num mesmo laboratório central (Lifechem Laboratories, Woodland Hills, CA). O doseamento dos níveis séricos de PTH intacta era feito usando o ensaio imunoradiométrico, recorrendo-se ao

“Nichols Institute Kit” (San Juan Capistrano, CA); os níveis séricos de Ca, P e de albumina, foram medidos utilizando-se um analisador Hitachi 736 (Hitachi, Indianapolis, Em).

Os dados foram expressos pela média \pm SEM médio, excepto quando afirmado em contrário. Para a análise estatística dos dados paramétricos, realizaram-se os testes ANOVA ou ANOVA de uma via com medidas repetidas quando indicado. Para dados não paramétricos, usaram-se os testes de Kruskal-Wallis e Friedman. Foi usado o teste t de Bonferroni ou o teste t de Student para ensaios de significância. Considerou-se significativo um valor de $p < 0,05$. Para fins comparativos, o objectivo final relativamente ao Protocolo 1 foi uma PTH intacta < 130 pg/ml ou 12 semanas de tratamento; para o Protocolo 2, o objectivo final foi uma PTH intacta < 100 pg/ml ou 12 semanas de tratamento com $1\alpha D_2$.

III - RESULTADOS

Nove homens e 1 mulher concluíram os dois protocolos. Quando se registaram no Protocolo 1, as suas idades oscilavam entre os 27 e 72 anos, com uma média de 52 anos de idade. A duração da hemodiálise nestes doentes foi em média de 52 meses, com uma distribuição entre os limites de 4 e de 116 meses. Antes do Protocolo 1, oito dos doentes tinham recebido calcitriol, enquanto que 2 doentes nunca tinham sido tratados com calcitriol. As causas da insuficiência renal crónica terminal incluíam : nefropatia hipertensiva em 7 doentes e glomerulonefrites em 3 doentes.

Os valores médios para a PTH intacta, Ca e P nos 6 doentes tratados com $1\alpha D_2$, 4 ug/diariamente ("terapêutica diária") no Protocolo 1 e em seguida com $1\alpha D_2$, 10 ug/3 vezes por semana ("terapêutica intermitente") são apresentados na Figura II-1. Tanto no tratamento diário como no tratamento intermitente com $1\alpha D_2$ os níveis séricos de PTH intacta foram suprimidos de forma igual; com o tratamento diário, o nível sérico médio de PTH intacta baixou do valor basal de 893 ± 100 pg/ml, par um valor de supressão máxima de 215 ± 67 pg/ml ($p < 0,02$), e com a terapia

intermitente, de um valor basal de 879 ± 118 pg/ml para um valor de supressão máxima de 217 ± 76 pg/ml ($p < 0,02$). Os valores de supressão máxima não foram diferentes entre os dois protocolos.

As alterações nos níveis séricos de PTH intacta individualmente para cada doente são apresentadas na Figura II-2. Os níveis séricos basais de PTH intacta oscilaram entre 510 e 1160 pg/ml nos doentes que receberam $1\alpha D_2$ diariamente (painel da esquerda) e entre 402 e 1188 pg/ml nos doentes que receberam terapia intermitente (painel da direita). O tratamento com $1\alpha D_2$ baixou os níveis séricos de PTH intacta em mais de 50% em relação ao valor basal em 5 dos 6 doentes em ambos os protocolos. O tempo necessário para suprimir os níveis séricos de PTH intacta abaixo de 50% do valor basal foi altamente variável para cada doente individualmente em ambos os protocolos, com um período de tempo que oscilou entre 10 a 44 dias com a terapêutica de administração diária e entre 7 a 63 dias com a terapêutica de administração intermitente: O período de tempo médio para se obter uma supressão da PTH intacta de 50% foi de $24,8 \pm 6,1$ dias e $28,8 \pm 9,9$ dias com o tratamento diário e o intermitente, respectivamente, valores esses que estatisticamente não se revelaram diferentes ($p = N.S.$) (Quadro II-5).

Quadro II-5: Duração de tratamento necessária para ser conseguida uma supressão de PTH $\geq 50\%$.

Regime de Dosagem	Diária vs Intermitente (28 – 30 ug por semana)		Terapia Intermitente	
	4 ug/dia	10 ug/HD	4 ug/HD	10 ug/HD
Dias até supressão de PTH $\geq 50\%$ (mean \pm SE)	$24,8 \pm 6,1$	$28,8 \pm 9,9$	$25,0 \pm 8,1$	$29,8 \pm 12,6$

Os níveis séricos basais de Ca foram semelhantes em ambos os grupos (Figura II-1). Com o tratamento diário, os níveis séricos basais de Ca subiram de $9,00 \pm 0,30$ mg/dl, definidos como a média de valores durante as últimas 4 semanas do período de observação, para $9,67 \pm 0,27$ mg/dl quando os níveis séricos de PTH intacta estavam maximamente suprimidos ($p < 0,05$). Com o

tratamento intermitente, os níveis séricos de Ca subiram do valor basal de $8.76 \pm 0,16$ mg/dl para $9.95 \pm 0,26$ mg/dl quando havia uma supressão máxima dos níveis séricos de PTH intacta ($p < 0,05$). Os níveis séricos de Ca na altura em que havia supressão máxima da PTH intacta não foram diferentes entre os dois protocolos. Os níveis séricos basais de P não diferiram entre os grupos. Com o tratamento diário, o nível sérico basal do P foi de $4,93 \pm 0,55$ mg/dl, definido como o valor médio de P durante as últimas 4 semanas do período basal de observação, e $5,33 \pm 0,35$ mg/d quando havia supressão máxima dos níveis séricos de PTH intacta ($p = N.S.$). Durante o tratamento com 10 ug/3 vezes por semana, o nível sérico basal de P foi de $5,25 \pm 0,46$ mg/dl e de $4,82 \pm 0,23$ mg/dl quando havia uma supressão máxima dos níveis séricos de PTH intacta ($p = N.S.$). Os valores para os níveis séricos de P no período de maior supressão dos níveis séricos de PTH intacta também não foram diferentes entre os protocolos.

Nos doentes que receberam tratamento diário com $1\alpha D_2$, o número de episódios de hipercalcemia, definidos por um nível sérico de Ca superior a 10,5 mg/dl, foi de 0 por 100 semanas de observação/doente durante o período basal de observação e de 2,7 por 100 semanas de observação/doente durante o período de tratamento ($p = N.S.$). Nos doentes que receberam uma terapêutica de administração intermitente da $1\alpha D_2$, a incidência de hipercalcemia foi de 1,7 por 100 semanas de observação/doente durante o período basal de observação, e de 0 por 100 semanas de observação/doente durante o período de tratamento com $1\alpha D_2$ ($p = N.S.$). A quantidade de episódios de hiperfosfatemia, definida como um nível sérico de P superior a 6,9 mg/dl, por 100 semanas de tratamento/doente nos 6 doentes tratados com 4 ug/diariamente em comparação com 10 ug/3 vezes por semana, foram de 7,9 contra 8,0, respectivamente, durante o período basal de observação, e de 4,1 contra 14,2, respectivamente, durante o período de tratamento com $1\alpha D_2$ (ambos, $p = N.S.$).

As alterações nos níveis séricos de PTH intacta nos 4 doentes tratados no Protocolo 1 com $1\alpha D_2$, 4 ug/3 vezes por semana e no Protocolo 2 com $1\alpha D_2$, 10 ug/3 vezes por semana, são apresentadas na Figura II-3. Os níveis séricos basais da PTH intacta foram semelhantes em ambos

os protocolos. Ambas as doses administradas de $1\alpha\text{D}_2$ de forma intermitente baixaram os níveis séricos de PTH intacta. Com a administração de 4 ug de $1\alpha\text{D}_2$, 3 vezes por semana, os níveis médios de PTH intacta baixaram de um valor basal de 484 ± 40 pg/ml, para um valor de supressão máxima de 160 ± 22 pg/ml ($p < 0,02$), enquanto que com a administração de 10 ug de $1\alpha\text{D}_2$, 3 vezes por semana, os níveis médios basais de 563 ± 86 pg/ml baixaram para um valor de supressão máxima de 109 ± 36 pg/ml, ($p < 0,02$). Os valores basais entre si para cada protocolo assim como os valores de supressão máxima entre si em cada protocolo, não foram significativamente diferentes, estatisticamente.

As alterações dos níveis séricos de PTH intacta para cada doente individualmente tratados com $1\alpha\text{D}_2$, 4 ug/3 vezes por semana (painel da esquerda) no primeiro protocolo, e no segundo protocolo com $1\alpha\text{D}_2$, 10 ug/3 vezes por semana (painel da direita) são apresentadas na Figura II-3. Os níveis séricos basais da PTH intacta oscilaram entre os 436 pg/ml e 603 pg/ml nos doentes que receberam $1\alpha\text{D}_2$, 4 ug/3 vezes por semana, e entre os 432 pg/ml e 815 pg/ml nos que receberam 10 ug/3 vezes por semana de $1\alpha\text{D}_2$. A $1\alpha\text{D}_2$ baixou os níveis séricos de PTH intacta mais de 50% dos valores basais em todos os 4 doentes em ambos os protocolos. O tempo necessário para suprimir os níveis séricos de PTH intacta em mais de 50% dos valores basais foi altamente variável. Para cada doente, individualmente, em ambos os protocolos, os períodos de tempo variaram entre os 10 e os 40 dias com a administração de 4 ug/três vezes por semana, e entre os 11 e os 66 dias com a administração de 10 ug/três vezes por semana. O tempo médio para ser atingida uma supressão de 50 % foi de $25,0\pm 8,1$ dias e $30,3\pm 12,6$ dias com a administração intermitente de 4 ug e de 10 ug, respectivamente, e não foram estatisticamente diferentes ($p = \text{N.S.}$) (Quadro II-5).

As alterações nos níveis séricos de Ca (painel central) e P (painel da direita) nos 4 doentes tratados, inicialmente com $1\alpha\text{D}_2$ na dose de 4 ug/3 vezes por semana e depois na dose de 10 ug/3 vezes por semana, são apresentadas na Figura II-4. Os níveis séricos basais de Ca foram semelhantes nos dois esquemas de tratamento utilizados. Com $1\alpha\text{D}_2$, na dose de 4 ug/3 vezes por

semana, o nível médio sérico de Ca subiu de $8,66 \pm 0,32$ mg/dl durante o período basal de observação, definido como a média dos valores obtidos durante as 4 últimas semanas deste período basal, para um nível médio de $9,58 \pm 0,45$ mg/dl durante a supressão máxima dos níveis séricos de PTH intacta ($p < 0,05$). Com a administração de 10 ug/3 vezes por semana, os níveis séricos de Ca subiram de $8,66 \pm 0,18$ mg/dl durante o período basal, para $9,25 \pm 0,40$ mg/dl na fase de supressão máxima dos níveis séricos de PTH intacta ($p = N.S.$). Correspondentes valores dos níveis séricos de Ca durante a supressão máxima da PTH intacta foram também semelhantes entre si em ambos os protocolos. Os níveis séricos basais do P foram também semelhantes entre os grupos. Com a administração de 4 ug/3 vezes por semana de $1\alpha D_2$, o nível sérico basal de P foi de $4,89 \pm 0,17$ mg/dl, definido como o valor médio dos níveis de P durante as últimas 4 semanas do período basal de observação, e de $4,63 \pm 0,36$ mg/dl quando havia uma supressão máxima dos níveis séricos de PTH intacta ($p = N.S.$). Da mesma forma, com a administração de 10 ug/3 vezes por semana de $1\alpha D_2$, o nível sérico de P foi de $5,79 \pm 0,38$ mg/dl durante o período basal de observação e de $4,68 \pm 0,62$ mg/dl quando os níveis séricos de PTH intacta se encontravam maximamente suprimidos ($p = N.S.$). Correspondentes valores dos níveis séricos de P quando os níveis séricos de PTH intacta se encontravam com o máximo de supressão não foram diferentes entre si nos dois protocolos.

Nos doentes que receberam $1\alpha D_2$ na dose de 4 ug/3 vezes por semana, o número de episódios de hipercalcemia, definidos como um nível sérico de Ca acima de 10,5 mg/dl, foram de 0 por 100 semanas de observação/doente durante o período de observação basal e de 4,0 por 100 semanas de observação/doente durante a administração de $1\alpha D_2$ ($p = N.S.$). Nos doentes que receberam 10 ug/3 vezes por semana de $1\alpha D_2$, a incidência de hipercalcemia foi 0 por 100 semanas de observação/doente durante o período de observação basal e de 0 por 100 semanas de observação/doente durante com a administração de $1\alpha D_2$ ($p = N.S.$). O número de episódios de hiperfosfatemia durante o período de observação basal (nível sérico de P acima de 6.9 mg/dl) foi

de 6,1 por 100 semanas de observação/doente naqueles tratados com $1\alpha\text{D}_2$ na dose de 4 ug/3 vezes por semana e de 15.9 por 100 semanas de observação/doente nos doentes do grupo tratado com 10 ug/3 vezes por semana de $1\alpha\text{D}_2$. Durante o tratamento com, $1\alpha\text{D}_2$ a quantidade de episódios de hiperfosfatemia foi de 15,6 por 100 semanas de observação/doente e de 19.9 por 100 semanas de observação/doente naqueles que foram tratados com 4 ug/3 vezes por semana e 10 ug/3 vezes por semana, respectivamente (p=N.S.).

ESTUDO 2: Terapêutica Intermitente com a $1\alpha\text{D}_2$ para o Hiperparatiroidismo Secundário:

Resultados de um Estudo Multicêntrico Controlado, Duplamente Cego.

(Resultados preliminares: Frazao JM et al. Nefrol Dial Transplant 1998 (156) e também Frazao et al. J Am Soc Nephrol 1997 (157); manuscrito final submetido para a revista J Am Soc Nephrol).

I - INTRODUÇÃO

A $1\alpha\text{D}_2$, é convertida no fígado para $1,25$ diHidroxitamina D_2 que é a sua forma activa. O tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ revelou-se eficaz para o hiperparatiroidismo secundário de doentes hemodialisados, quando administrada em doses de $4\mu\text{g}/\text{dia}$ ou $4\mu\text{g}/3$ vezes por semana no fim de cada hemodiálise, com baixo risco de hipercalcemia ou hiperfosfatemia (147). No **Estudo 1** demonstrou-se, num pequeno número de doentes, que a $1\alpha\text{D}_2$, quando administrada oralmente, numa dose de $10\mu\text{g}$ três vezes por semana, é tão eficaz e segura como a dose de $4\mu\text{g}$ administrada diariamente para fazer baixar os níveis séricos de PTH intacta em doentes em hemodiálise com hiperparatiroidismo secundário moderado a grave. A hipercalcemia e a hiperfosfatemia não diferiram nos dois regimes de dosagem utilizados, consistindo numa dose total semelhante de 28 a $30\mu\text{g}$ por semana. Além disso, os resultados do **Estudo 1** revelam um perfil de segurança semelhante para a $1\alpha\text{D}_2$, quer na dose de $10\mu\text{g}$ tomados três vezes por semana, quer na dose de $4\mu\text{g}$ tomados três vezes por semana, tal como se conclui dos resultados em quatro outros doentes tratados com estes dois regimes. Este **Estudo 1** e o pequeno estudo piloto inicial (147) forneceram a base científica para o presente grande estudo multicêntrico. Neste **Estudo 2**, uma dose inicial alta de $1\alpha\text{D}_2$, $10\mu\text{g}$ administrada oralmente três vezes por semana em cada hemodiálise, foi ajustada

para manter os níveis séricos de PTH intacta dentro de uma margem pré-defenida de 150 a 300 pg/ml. Esta abordagem contrasta com o método que é habitualmente usado para se tratar o hiperparatiroidismo secundário com calcitriol ou a alfacalcidol, em que as doses iniciais são cuidadosamente baixas e os ajustamentos são orientados pelas alterações nos níveis séricos de Ca. O presente estudo clínico é multicêntrico e foi concebido para avaliar a eficácia e segurança de doses orais elevadas de $1\alpha D_2$ para o tratamento dos hiperparatiroidismos secundários de grau moderado a grave, num grande número de doentes em hemodiálise. Um segundo objectivo deste estudo foi avaliar o impacto que tem a gravidade do hiperparatiroidismo nas doses de $1\alpha D_2$ necessárias para se obter uma resposta terapêutica reconhecidamente boa e significativa.

II - MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo multicêntrico, duplamente cego, controlado com a administração de placebo foi realizado em 138 doentes sujeitos a hemodiálise com um hiperparatiroidismo secundário moderado a grave (níveis séricos de PTH intacta > 400 pg/ml). Estes doentes com insuficiência renal crônica terminal em hemodiálise foram seleccionados de entre uma população total de doentes em hemodiálise de aproximadamente 2000 doentes a serem tratados em 18 unidades de diálise em duas áreas geográficas separadas dos EUA, no sul da Califórnia e na região leste do Tennessee-Mississippi. Todos os doentes seguiram o mesmo protocolo. O protocolo para este estudo foi aprovado pelas comissões de ética para estudos humanos em cada uma das instituições, e foi obtido o consentimento informado de cada doente. Os critérios para a inclusão no período de observação de referência basal do estudo foram: (1) a idade entre os 20 e os 75 anos; (2) uma duração de permanência em hemodiálise superior a 4 meses; (3) a prova de um valor sérico de PTH intacta superior a 400 pg/ml sem estar com terapêutica de calcitriol, (4) um nível sérico de albumina superior a 3,5 gm/dl, (5) uns níveis séricos de fósforo (P) entre os 2,5 e 6.9 mg/dl durante os 2 meses prévios, e (5) uma ausência de ingestão de quelantes de fósforo com teor em alumínio nos 12 meses prévios e associada a um nível sérico de alumínio inferior a 40 ug/ml. Os critérios para exclusão incluíram: (1) qualquer situação médica subjacente, como síndrome de má absorção intestinal ou doença hepática grave, que pudesse alterar a absorção ou o metabolismo da $1\alpha D_2$, (2) qualquer condição, como o abuso de álcool ou de drogas, doença maligna, ou distúrbio psiquiátrico, que pudesse levar ao abandono do estudo, (3) e uma cirurgia de paratiroidectomia nos 12 meses prévios.

O estudo durou 32 semanas e foi dividido em três períodos: a observação basal (8 semanas), um tratamento de rótulo aberto com $1\alpha D_2$ (16 semanas), e um tratamento duplamente cego e controlado por placebo (8 semanas). Durante o período de observação basal com a duração de 8

semanas, os doentes não receberam qualquer administração de Vitamina D. Após esta fase, os doentes eram excluídos de entrarem na fase de tratamento de rótulo aberto com $1\alpha\text{D}_2$ se não apresentassem: 1) um nível sérico de P de 2,5 a 6,9 mg/dl; 2) um nível sérico médio, de Ca menor ou igual a 10,5 mg/dl; 3) um valor médio do produto (CaX P) inferior ou igual a 70; 4) pelo menos um valor de PTH intacta plasmática superior a 400 pg/ml por ocasião da entrada no período basal ou durante as primeiras 7 semanas deste período, ou um valor médio dos níveis plasmáticos de PTH intacta acima de 350 pg/ml durante o período de observação basal.

Após o período de referência, basal, os doentes iniciaram um período de tratamento de rótulo aberto de 16 semanas com uma dose inicial de $1\alpha\text{D}_2$ de 10 ug por hemodiálise. A semana um é definida como a primeira semana deste tratamento. Esta dose foi ajustada, como se descreve com a finalidade de se manterem os níveis plasmáticos de PTH intacta entre 150 e 300 pg/ml, valores que à partida garantiriam uma remodelação óssea normal, ou quase normal, e ao mesmo tempo as características mínimas de um hiperparatiroidismo secundário em doentes em hemodiálise (5,65,66).

O estudo terminou com 8 semanas de tratamento duplamente cego e cruzado em que aproximadamente uma metade dos doentes continuou em tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ e a outra metade foi mudada para placebo. As doses de $1\alpha\text{D}_2$ e os consequentes ajustamentos foram seguidos ininterruptamente à medida que os doentes passavam do tratamento de rótulo aberta para o período cego controlado com placebo. Aproximadamente 50% dos doentes foram mudados de $1\alpha\text{D}_2$ para placebo. A passagem para o período com placebo ou de continuação do tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ foi feita num gabinete central, utilizando-se um código de randomização criado por um técnico de estatística, e a partir dos números de randomização que foram sendo atribuídos aos doentes à medida que entraram no estudo.

Os doentes receberam apenas carbonato de cálcio ou acetato de cálcio com quelantes de fósforo com as doses ajustadas para se manter um nível sérico de P inferior a 6,9 mg/dl. Ao longo

de todo o estudo, os doentes foram hemodialisados três vezes por semana, 3 a 4 horas por sessão, usando-se um banho de diálise com uma concentração de Ca de 2,5 mEq/l na maioria dos doentes excepto 22 doentes usaram um banho com um Ca de 2 mEq/l, 14 doentes usaram um banho com uma concentração de Ca de 3,0 mEq/l e 5 doentes usaram 3,5 mEq/l de Ca no banho segundo o critério do nefrologista local .

2 - Ajustamentos das doses: Colheram-se amostras de sangue para doseamento dos níveis de PTH intacta no início de cada diálise a meio de cada semana, e o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ era temporariamente interrompido se o nível plasmático de PTH intacta descesse abaixo dos valores alvo acima estabelecidos, sendo o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ retomado com uma dose menor antes da hemodiálise a meio da semana seguinte (Quadro II-6). Por razões de segurança, o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ era temporariamente interrompido em doentes que desenvolvessem: 1) uma hipercalcemia moderada, definida como um nível sérico de Ca superior a 11,2 mg/dl; 2) uma hiperfosfatemia significativa, definida como um nível sérico de P superior a 8,0 mg/dl, ou 3) um produto dos níveis séricos de (CaX P) persistentemente elevado e superior a 75. Quando o tratamento foi interrompido por qualquer dessas razões de segurança, o Ca e o P do soro foram vigiados antes do início de cada hemodiálise até os níveis séricos de Ca descerem para valores inferiores ou iguais a 10,5 mg/dl, os níveis séricos do P descerem para valores inferiores ou iguais a 6,9 mg/dl, ou o produto CaX P descesse para valores inferiores a 70.0; altura em que o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ era retomado com uma dose reduzida, como se indica no Quadro II-6.

Ao fim de 8 semanas de tratamento com $1\alpha\text{D}_2$, e subsequentemente em intervalos de 8 semanas, a dose de $1\alpha\text{D}_2$ podia ser aumentada em 5 ug por hemodiálise até um máximo de 20 ug três vezes por semana se os níveis plasmáticos de PTH intacta não estivessem dentro da margem dos valores alvo, ou se ainda permanecessem com uma supressão inferior a 50% do valor basal pré-tratamento. Os valores basais de cálcio, fósforo, e PTH intacta foram definidos como a média das últimas 3 semanas do período de observação basal. Durante o período duplamente cego, fizeram-se

ajustamentos sucessivos das doses da mesma forma que foram feitos durante o tratamento de rótulo aberto para manter os níveis plasmáticos de PTH intacta dentro da margem dos valores - alvo.

3 - Medições bioquímicas: Os níveis séricos de Ca, os níveis séricos de P e os níveis plasmáticos de PTH intacta foram vigiados semanalmente ao longo de todo o estudo. Por ocasião da entrada na fase de tratamento com rótulo aberto, e nas semanas 4, 8, 12, 16 e 24 subsequentes, foram colhidas amostras extras de sangue para se estabelecer um perfil dos níveis plasmáticos de $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_2$, $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, de osteocalcina e de fosfatase alcalina óssea. a) - Fosfatase alcalina óssea: A margem dos valores normais para a fosfatase alcalina óssea é de 15,0 a 41,3 U/L no homem, de 11,6 a 30,6 U/L para mulheres com idades de 25 a 55 anos, e de 14,8 a 30,6 U/L para mulheres com 56 anos ou mais. b) - PTH intacta (iPTH): Todas as amostras de sangue foram obtidas antes da hemodiálise, o perfil químico e os níveis de PTH intacta foram medidos no mesmo laboratório central (Lifechem Laboratories, Woodland Hills, CA). Mediram-se os níveis plasmáticos de PTH intacta através do método imuno-radiométrico, recorrendo-se ao “Nichols Institute Kit” (San Juan Capistrano, CA); c) - Cálcio, Fósforo e Albumina: os níveis séricos de Ca, de P, e de albumina foram medidos, usando-se um Analisador Hitachi 736 (Hitachi, Indianapolis, Em). d) - Os níveis plasmáticos de $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_2$ e de $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ foram medidos na Bone Care International, Madison, Estado de WI, EUA, usando-se um ensaio radio-receptor após cromatografia líquida de alta pressão (158,159). Os limites de detecção foram de 5,0 pg/ml para $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_2$ e 10,0 pg/ml para $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$. Para o cálculo das concentrações médias destes compostos, atribuíram-se os valores de 5,0 pg/ml para os níveis plasmáticos indetectáveis de $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_2$, e de 10,0 pg/ml para a $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, respectivamente. e) - Os níveis séricos de osteocalcina e de fosfatase alcalina específica óssea foram determinados pela Pacific Biometrics, Inc., em Seattle, Estado de WA, EUA, usando-se kits comerciais. A osteocalcina foi medida, usando-se um kit quimicoluminescente de diagnóstico do Nichols Institute, e a fosfatase alcalina específica do osso foi medida, usando-se um “imunoassay” com um kit da Metra Biosystems.

Apenas os dados dos 99 doentes que concluíram o Protocolo se encontram incluídos na análise dos dados. Os dados que incluíam todos os doentes que concluíram a fase de tratamento de rotulagem aberta também foram analisados (156,157); não houve diferenças significativas entre os resultados das duas análises separadas. Os dados são expressos como valores da média \pm SEM, excepto se afirmado em contrario. Compararam-se grupos de tratamento relativamente a cada um dos parâmetros avaliados e registados no período da observação basal, usando-se um t-test de Student ou um teste de Wilcoxon de duas amostras, conforme adequado. Usou-se o ensaio de Fisher para a avaliação estatística para variáveis com distribuição binomial. Todos os cálculos foram realizados usando-se o Sistema de Análise Estatística (SAS). Um Valor P inferior a 0,05 foi considerado significativo.

RESULTADOS

Sessenta e dois doentes da região da Califórnia e 76 doentes da região de Tennessee/Mississippi concluíram o período basal de observação e ficaram qualificados para o período de tratamento de rotulo aberto. Na Califórnia, 38 dos 62 doentes que iniciaram a fase de tratamento aberta concluíram as 24 semanas de estudo, enquanto que no Tennessee/Mississippi, 61 dos 76 doentes concluíram o estudo de 24 semanas. As características demográficas das duas populações de doentes que concluíram as 24 semanas de tratamento são apresentadas no Quadro II-7.

Os valores médios dos níveis plasmáticos de PTH intacta, dos níveis séricos de cálcio e fósforo para a população estudada são apresentados no Quadro II-8, e as alterações seriadas dos níveis plasmáticos de PTH intacta e dos níveis séricos de Ca e P são apresentadas nas Figuras II-5 e II-6. O nível médio sérico de albumina foi de $4,06 \pm 0,03$ g/dl na semana zero, $4,01 \pm 0,01$ g/dl na semana 16, e de $3,97 \pm 0,05$ g/dl na semana 24 para os dois grupos de doentes, os que continuaram

o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ e os que receberam placebo. Quando os níveis séricos de Ca em doentes com albumina no soro abaixo de 4,0 g/dl foram corrigidos em relação à concentração reduzida de albumina, e não houve diferenças nos resultados. Por isso, todos os dados apresentados são níveis séricos de Ca não corrigidos. Os valores basais séricos de Ca e P, e os valores basais plasmáticos de PTH intacta para os grupos que subsequentemente, a partir da semana 16, foram convertidos para placebo ou continuaram em tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si. Os níveis plasmáticos médios de PTH intacta basal foi de $897,4 \pm 52$ pg/ml e foi significativamente reduzido após uma semana de tratamento de $1\alpha\text{D}_2$ para $80,2 \pm 3,43$ % em relação ao valor basal ($p < 0,001$). Posteriormente, o nível plasmático de PTH intacta continuou a baixar, e na semana 16 foi de $44,7 \pm 2,87$ % do valor basal ($p < 0,001$) (Figura II-5). Nos doentes convertidos para placebo durante o período duplamente cego, o nível plasmático de PTH intacta aumentou significativamente em $77,2 \pm 17,5$ % após uma semana ($p < 0,01$), e na semana 20, não havia diferença significativa em relação ao valor basal original. Pelo contrário, os níveis plasmáticos de PTH intacta dos doentes que continuaram a receber $1\alpha\text{D}_2$ permaneceram suprimidos e foram de $44,7 \pm 4,05$ % do valor basal na semana 24. A partir da semana 17 até à semana 24, os graus de supressão dos níveis plasmáticos de PTH intacta diferiram significativamente entre os grupos tratados com placebo e os grupos tratados com $1\alpha\text{D}_2$ (semanas 18 e 19, $p < 0,01$; semanas 20 a 24; $p < 0,001$).

O Quadro II-9 resume o efeito de tratamento de $1\alpha\text{D}_2$ sobre o número absoluto de doentes e as respectivas percentagens de doente em relação à totalidade da população estudada que apresentaram graus variados de supressão dos níveis plasmáticos de PTH intacta. Quase 92% dos doentes tratados com $1\alpha\text{D}_2$ tiveram o seu nível plasmático de PTH intacta suprimido em mais de 50%, e aproximadamente 83% atingiram os valores-alvo desejados.

Foi também examinado o efeito do tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ nos níveis plasmáticos de PTH intacta em doentes com um hiperparatiroidismo secundário com um grau de gravidade variado,

dividindo-se os 99 doentes em três grupos consoante os níveis plasmáticos basais de PTH intacta: O Grupo I, com níveis de PTH intacta inferiores a 600 pg/ml (n=33); o Grupo II, com níveis de PTH intacta entre os 600 e os 1200 pg/ml (n=48), e o Grupo III, com níveis de PTH intacta superiores a 1200 pg/ml (n=18). Para o período entre a semana 16 até à semana 24, estão só incluídos os doentes que foram randomizados para receberem o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$, com 16, 22, e 10 doentes nos Grupos I, II, e III, respectivamente. Observaram-se padrões diferentes de supressão de dos níveis plasmáticos de PTH intacta, consoante os níveis basais de PTH intacta. Para os doentes do Grupo I, os níveis plasmáticos de PTH intacta desceram rapidamente, atingindo os valores-alvo desejados após duas semanas de tratamento; nos doentes do Grupo II esta descida foi mais lenta, demorando 10 a 11 semanas até serem atingidos os valores-alvo; os níveis plasmáticos de PTH intacta dos doentes do Grupo III desceram ainda mais lentamente ao longo das 24 semanas (Fig II-7). Durante o período de tempo entre a semana 1 e a semana 4, os níveis plasmáticos médios de PTH intacta de cada grupo foram estatisticamente diferentes dos outros dois grupos; subsequentemente, os níveis plasmáticos de PTH intacta não diferiram entre os doentes dos grupos I e II. Os valores de PTH intacta dos doentes do Grupo III foram significativamente mais altos do que os dos doentes dos Grupos I e II desde a semana 2 até à semana 24, excepto na semana 17.

Os níveis séricos de Ca subiram ligeiramente acima do valor basal durante o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$. Este aumento ocorreu logo inicialmente tendo significado estatístico a partir da semana 2 de tratamento (Figura II-6) ($p < 0,001$). Posteriormente, os níveis séricos de Ca permaneceram a um nível estável embora ligeiramente mais alto do que o nível basal. Durante o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ com rótulo aberto, os níveis séricos médios de Ca variaram entre os 9,25 e os 9,81 mg/dl. Durante o período duplamente cego, controlado com o placebo, os níveis séricos de Ca baixaram muito ligeiramente durante a conversão para placebo (Figura II-6) e diferiram entre o grupo de doentes a serem tratados com placebo e o grupo de doentes a receberem $1\alpha\text{D}_2$ em todas as semanas excepto

na semana 19.

Durante as semanas iniciais de tratamento com $1\alpha\text{D}_2$, os níveis séricos de fósforo subiram ligeiramente acima do valor basal (Figura II-6). O nível sérico médio de P foi significativamente mais alto do que o nível médio basal desde a primeira semana até à semana 16 ($p < 0,001$). Durante o período de tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ com rótulo aberto, os níveis médios de fósforo sérico oscilaram entre os $5,24 \pm 0,12$ e os $5,76 \pm 0,16$ mg/dl. Durante o período duplamente cego, os níveis séricos de fósforo desceram ligeiramente nos doentes que receberam placebo mas não houve diferença significativa entre o grupo de doentes a receber placebo e o grupo de doentes que continuou tratamento com $1\alpha\text{D}_2$.

Para os três grupos de doentes com níveis plasmáticos basais de PTH intacta diferentes apresentados na Figura II-7, os níveis séricos médios de Ca e P não diferiram entre os três grupos de doentes ao longo das 24 semanas.

Relativamente aos efeitos secundários, o predomínio de episódios hipercalcémicos, definidos como níveis séricos de Ca acima de 11,2 mg/dl, e de episódios de hiperfosfatemia, definidos como níveis séricos de P acima de 6,9 mg/dl, relativamente a todos os 138 doentes que iniciaram o período de tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ com rótulo aberta, são apresentados na Figura II-8. Durante o período basal de observação, deram-se 0,10 episódios de hipercalcemia por 100 semanas de observação por doente em comparação com 3,54 episódios por 100 semanas de observação durante o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ com rótulo aberto ($p < 0,01$). Durante a fase duplamente cega, o predomínio da hipercalcemia foi de 0,66 e de 3,56 por 100 semanas de observação para o grupo de doentes tratados com placebo e para o grupo de doentes tratados com $1\alpha\text{D}_2$, respectivamente ($p < 0,01$). O valor da média dos níveis séricos de Ca durante os episódios de hipercalcemia foi de 11,6 mg/dl, tendo o nível sérico de Ca excedido os 13,0 mg/dl em quatro ocasiões, representando 0,17 % das 2398 determinações do Ca sérico durante o período de estudo. O valor mais alto foi de 14,7 mg/dl. Nenhum doente teve sintomas atribuíveis à hipercalcemia. Após o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$

ter sido interrompido por causa de episódios de hipercalcemia, os níveis séricos de Ca desceram abaixo de 11,2 mg/dl no espaço de 7 dias em todas as situações excepto numa. Durante 40 destes 84 (48%) episódios hipercalcémicos, os níveis plasmáticos de PTH intacta eram inferiores à margem de valores-alvo pretendidos, sendo a média destes níveis $98,0 \pm 4,7$ pg/ml.

Durante o período basal de observação, aconteceram 0,83 episódios de hiperfosfatemia por 100 semanas de observação/doente em comparação com 3,65 por 100 semanas de observação/doente durante o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ com rótulo aberto ($p < 0,001$). Durante o tratamento duplamente cego, existiram 2,41 e 5,23 episódios de hiperfosfatemia por 100 semanas de observação/doente nos grupos de doentes tratados com placebo e no grupo de doentes tratados com $1\alpha\text{D}_2$, respectivamente ($p < 0,05$).

As doses de quelantes de fósforo com teor de cálcio consumidas durante as várias fases do estudo são apresentadas II-10. A quantidade de quelantes de fósforo administrada aos doentes não foi diferente entre qualquer dos períodos de tratamento.

Os efeitos do tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ sobre a fosfatase alcalina ossea são apresentados na Figura II-9. Os níveis basais foram de $62,2 \pm 7,59$ U/L, significativamente acima dos limites superiores do normal. Durante o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ houve uma diminuição significativa deste valor inicial para $34,1 \pm 4,93$ U/L ($62,9 \pm 4,1$ % do valor basal) no final de 16 semanas de tratamento com a $1\alpha\text{D}_2$ de rótulo aberto ($p < 0,001$). No fim do período de estudo duplamente cego, os doentes que continuaram a receber $1\alpha\text{D}_2$ tinham um valor de fosfatase alcalina óssea de $32,9 \pm 7,8$ U/L ($56,4 \pm 5,6$ % do valor basal) em comparação com um valor de $41,5 \pm 5,58$ U/L para os doentes que receberam placebo ($92,0 \pm 12,4$ % do valor basal) ($p < 0,05$). A média elevada de fosfatase alcalina óssea, às 24 semanas, no grupo de doentes tratados com $1\alpha\text{D}_2$ incluía um doente com um valor basal de 552 U/L que desceu ao fim de 24 semanas de tratamento para 352 U/L. Excluindo este doente, a fosfatase alcalina óssea às 24 semanas para estes doentes tratados com $1\alpha\text{D}_2$ foi de $26,7 \pm 4,16$ U/L ($54,7 \pm 6,1$ % do valor basal). Quando foram excluídos os valores de

fosfatase alcalina óssea de 8 doentes com níveis basais baixos, inferiores a 20 U/L, as reduções em fosfatase alcalina óssea com tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ foram ainda mais significativas: $88,3 \pm 2,33 \%$ e $55,4 \pm 2,4 \%$ nas semanas 4 e 16 de tratamento, respectivamente, e no fim de 24 semanas de tratamento os valores foram de $54,9 \pm 5,9 \%$ e de $72,2 \pm 3,8 \%$ para os grupos de doentes tratados com $1\alpha\text{D}_2$ e para aqueles que receberam placebo, respectivamente.

Os níveis séricos de osteocalcina manifestaram uma alteração bifásica, com um aumento pequeno mas significativo às 4 semanas e uma descida muito maior após 16 semanas de tratamento. Assim, os valores basais de osteocalcina foram em média de $74,4 \pm 3,6 \text{ ng/ml}$, e, ao fim de 4 semanas de tratamento, o valor tinha aumentado para $82,2 \pm 4,1 \text{ ng/ml}$ ($112,3 \pm 2,2 \%$ da linha de base) ($p < 0,001$). Na 16ª semana de tratamento, o valor foi reduzido para $60,5 \pm 3,5 \text{ ng/ml}$ ($82,0 \pm 2,4 \%$ do valor basal) ($p < 0,001$). Durante o período de estudo duplamente cego houve diferenças significativas nos níveis de osteocalcina, expressos sob a forma de percentagem dos valores basais, entre o grupo de doentes tratados com $1\alpha\text{D}_2$ e o grupo de doentes que receberam placebo, visto a osteocalcina ter subido ligeiramente para $85,2 \pm 4,3 \%$ no grupo placebo mas continuou a baixar para $72,6 \pm 4,0 \%$ nos doentes tratados com $1\alpha\text{D}_2$ ($p < 0,05$).

A dose média semanal de $1\alpha\text{D}_2$ administrada aos doentes durante a fase de tratamento, ao fim de 16 semanas com $1\alpha\text{D}_2$ com rótulo aberto, baixou de $28,7 \pm 0,347 \text{ ug/semana}$ durante primeira semana para $17,5 \pm 1,51 \text{ ug/semana}$ na 16ª semana de tratamento. Durante o período de tratamento duplamente cego, a dose administrada subiu nos doentes tratados com placebo mas permaneceu mais baixa no grupo de doentes que continuaram tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ (Figura II-10). Houve uma estreita relação entre os níveis médios de plasma de $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_2$ e a dose média de $1\alpha\text{D}_2$ recebida durante a semana anterior à medição dos níveis (Figura II-11).

As doses médias semanais de $1\alpha\text{D}_2$ para os grupos de doentes com diferentes graus de gravidade de hiperparatiroidismo secundário, previamente definidos de acordo com os seus níveis plasmáticos basais de PTH intacta, encontram-se apresentadas na Figura II-12. As doses de $1\alpha\text{D}_2$

administradas aos doentes do Grupo I foram menores do que as doses administradas aos doentes do Grupo III entre a 3ª e 8ª semana de tratamento; após a 8ª semana de tratamento, quando o Protocolo permitiu ajustar a dose inicial, subindo-a, as doses administradas aos doentes do Grupo III subiram e excederam aquelas que foram administradas aos doentes dos Grupos I ou II durante as restantes 24 semanas do estudo, excepto para a 17ª semana. As doses médias de $1\alpha\text{D}_2$ administradas aos doentes foram significativamente diferentes entre os Grupos I e II apesar da falta de diferença entre os valores dos níveis médios de PTH intacta entre a 9ª e a 16ª semana.

Os níveis plasmáticos de $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ foram essencialmente indetectáveis e não mudaram durante o estudo; os valores médios basais foram de $10,8 \pm 0,22$ pg/ml e de $10,3 \pm 0,13$ pg/ml na 16ª semana.

ESTUDO 3: Uso da 1-Alfa-Hidroxivitamina D₂ Intravenosa em Doentes em

Hemodiálise com Hiperparatiroidismo Secundário Moderado a Grave.

(Adaptado de Coburn JW, Frazao JM, Chesney RW, The 1 α D₂ group. Bone 1998 and Frazao JM, Coburn JW, Chesney RW, The 1 α D₂ group. J Am Soc Nefrol 1998.

INTRODUÇÃO

Os dois primeiros estudos multicêntricos mostraram que o tratamento com 1 α D₂ administrada por via oral de forma intermitente é altamente eficaz em suprimir os níveis plasmáticos de PTH intacta em doentes hemodialisados com hiperparatiroidismo secundário moderado a grave. Isto aconteceu com os níveis séricos de Ca a subirem ligeiramente mas geralmente a ficarem dentro dos valores normais. Nestes estudos as incidências de hipercalcemia e hiperfosfatemia pareceram ser muito mais baixas do que tem sido reportado com o uso do calcitriol oral ou intravenoso e da alfacalcidol. Estes resultados confirmaram os resultados de um pequeno estudo piloto feito anteriormente com 1 α D₂ em doentes em hemodiálise (147).

O presente estudo é um ensaio multicêntrico que foi concebido para esclarecer duas questões: 1) qual é a segurança e eficácia do tratamento com 1 α D₂ administrado por via intravenosa (I.V.) de forma intermitente no tratamento dum hiperparatiroidismo secundário moderado a grave e presente num grande número de doentes com insuficiência renal crónica em hemodiálise; 2) e comparar a eficácia e segurança da administração intermitente de 1 α D₂ por via parentérica com a administração deste composto de forma intermitente por via oral.

MATERIAL E MÉTODOS

Os 64 doentes que participaram neste estudo foram o objecto do **Estudo 2** anterior sobre segurança e eficácia de $1\alpha D_2$ administrado de forma intermitente e por via oral em doentes em hemodiálise. Estes doentes tinham hiperparatiroidismo secundário moderado a grave, definido pelos níveis plasmáticos de PTH intacta superiores a 400 pg/ml. Os protocolos para este estudo foram aprovados pela comissão de ética para os estudos humanos em cada uma das instituições, e foi obtido consentimento informado de cada doente. Cada doente participou em ambos os estudos separados por um período intercalar de observação basal de pelo menos 8 semanas. Após este período entre os dois estudos de pelo menos 8 semanas, os doentes iniciaram um período de 12 semanas em que receberam tratamento com $1\alpha D_2$ com uma dose inicial de 4,0 ug administrada por via intravenosa após cada hemodiálise (12,0 ug/semana), ajustada para ter uma biodisponibilidade equivalente à dose oral inicial usada no **Estudo 2** de 10 ug/HD. Obviamente, foram necessários os critérios de inclusão no período de observação basal do estudo anterior (**Estudo 2**) para os doentes poderem ser incluídos neste estudo: (1) duração de hemodiálise superior a 4 meses; (2) prova do valor de níveis plasmáticos de PTH intacta superiores a 400 pg/ml e sem que o doente estivesse a receber terapia com calcitriol, (3) um nível sérico de albumina superior a 3,5 gm/dl, (4) um nível sérico médio de P entre 3,0 e 6,9 mg/dl ao longo dos 2 meses prévios, (5) ausência de ingestão de quelantes de fósforo contendo alumínio durante os 12 meses prévios, e (6) um nível sérico de alumínio inferior a 40 ug/ml.

Os critérios para exclusão incluíram: (1) os doentes que usaram regularmente preparações contendo alumínio como quelantes do fósforo alimentar após concluírem o estudo anterior, ou que têm níveis séricos de alumínio superiores a 40 ug/ml; (2) doentes que foram submetidos a paratiroidectomia parcial ou total após concluírem o estudo anterior; (3) doentes que

desenvolveram doença maligna com necessidade de tratamento médico contínuo, doença gastrointestinal crónica (i.e., má absorção, cirurgia que afecte a absorção, e colite ulcerosa crónica), insuficiência hepática, ou qualquer outra situação que possa interferir com a avaliação do doente, ou poderá colocar o doente em risco indevido. O estudo durou 20 semanas e foi dividido em dois períodos: observação basal (8 semanas) e tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ com rótulo aberto (12 semanas). Durante o período de observação basal com a duração de 8 semanas, os doentes não receberam qualquer tipo de terapia com Vitamina D. Após este período de observação basal, os doentes foram excluídos de iniciarem a fase de tratamento se não apresentassem: 1) um nível sérico médio de P entre 2,5 e 6,9 mg/dl; um nível sérico médio de Ca menor ou igual a 10,5 mg/dl; uma média do produto dos níveis sérico de (CaX P) menor ou igual a 70; pelo menos um valor de PTH intacta superior a 400 pg/ml por ocasião da entrada no estudo ou durante as 7 primeiras semanas do período de observação basal, ou uma média dos níveis plasmáticos de PTH intacta superior a 350 pg/ml durante o período de observação.

Após o período de observação basal, os doentes iniciaram um período de tratamento de 12 semanas de rotulo aberto com uma dose inicial de $1\alpha\text{D}_2$ de 4 ug por hemodiálise; a semana um é definida como a primeira semana deste tratamento. Esta dose foi ajustada, como descrito adiante, num esforço para se manterem os níveis plasmáticos de PTH intacta dentro de uma margem de valores-alvo de 150 a 300 pg/ml, valores estes associados a uma remodelação óssea normal ou quase normal e com características mínimas do hiperparatiroidismo secundário em doentes sujeitos a hemodiálise (5,65,66).

Os doentes receberam apenas carbonato de cálcio ou acetato de cálcio como quelantes de fósforo com as doses destes ajustadas para se manter o nível sérico de P inferior a 6,9 mg/dl. Ao longo de todo o estudo, os doentes foram submetidos três vezes por semana a hemodiálise, cada sessão com uma duração entre 3 a 4 horas, usando-se concentrações de Ca no banho de diálise variando entre os 2,0 mEq/l e os 3,5 mEq/l segundo os critérios dos nefrologistas locais .

Ajustamentos das doses: recolheram-se amostras de sangue para doseamento dos níveis plasmáticos de PTH intacta semanalmente, no início da sessão de hemodiálise do meio da semana, e o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ foi interrompido temporariamente se os níveis plasmáticos de PTH intacta descessem abaixo da margem de valores-alvo sendo o tratamento retomado depois com menor dose (Quadro II-11). Por razões de segurança, o tratamento foi também temporariamente interrompido em doentes que desenvolveram: 1) hipercalcemia moderada, definida como um nível sérico de Ca superior a 11,2 mg/dl; 2) hiperfosfatemia significativa, definida como um nível plasmático de P superior a 8,0 mg/dl, ou 3) um produto dos níveis séricos de (Ca X P) persistentemente elevados acima de 75. Quando o tratamento foi interrompido por razões de segurança, os níveis séricos de Ca e de P foram doseados antes de se proceder a cada hemodiálise até que o nível sérico de Ca descesse para valores inferiores ou iguais a 10,5 mg/dl, o os níveis séricos de P descessem para valores inferiores ou iguais a 6,9 mg/dl, ou o produto Ca X P descesse para um valor inferior 70. O tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ era então retomado com dose reduzida de acordo com o apresentado no Quadro II-11.

Quadro II-11

Nível de dosagem	Regime (ug)	Dose por semana (ug)
A (Máximo)	6,0 ug após cada hemodiálise	18,0
B	5,0 ug após cada hemodiálise	15,0
C (Dose Inicial)	4,0 ug após cada hemodiálise	12,0
D	3,0 ug após cada hemodiálise	9,0
E	2,0 ug após cada hemodiálise	6,0
F	1,0 ug após cada hemodiálise	3,0
G	0,0 ug após cada hemodiálise	0,0

Na 8ª semana e subsequentemente em intervalos de 8 semanas, à discrição do investigador, a dose de $1\alpha D_2$ podia ser aumentada em 2,0 ug por hemodiálise até um máximo de 6 ug três vezes por semana se os níveis plasmáticos de PTH intacta não estivessem dentro dos valores-alvo, e permanecessem acima de 50% do valor basal pré-tratamento. Os valores basais dos níveis séricos de cálcio, fósforo, e os níveis plasmáticos basais de PTH intacta foram definidos como a média dos valores das últimas 3 semanas do período de observação basal.

Medições bioquímicas: Os níveis séricos de Ca e de P e os níveis plasmáticos de PTH intacta foram obtidos semanalmente ao longo de todo o estudo. Por ocasião da admissão à fase de tratamento e nas semanas 4, 8 e 12, efectuou-se uma colheita de sangue suplementar para definir

um perfil químico dos níveis plasmáticos de $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_2$, $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, da osteocalcina e da fosfatase alcalina óssea. A margem normal dos valores para a fosfatase alcalina óssea é de 15,0 a 41,3 U/L para homens, de 11,6 a 30,6 U/L para mulheres com idades entre os 25 e os 55 anos, e de 14,8 a 30,6 U/L para mulheres com 56 anos ou mais. Todas as amostras de sangue foram obtidas imediatamente antes da hemodiálise, o perfil químico e os níveis de PTH intacta foram medidos no mesmo laboratório central (Lifechem Laboratories, Woodland Hills, CA, EUA). Para a medição dos níveis plasmáticos de PTH intacta foi usado o método imunoradiométrico, com o "Nichols Institute Kit" (San Juan Capistrano, CA, EUA); Os níveis séricos de Ca, P, e de albumina foram medidos usando-se um analisador Hitachi 736 (Hitachi, Indianapolis, Em, EUA).

Apenas os dados de doentes que concluíram o Protocolo estão incluídos na análise dos dados. Os dados foram analisados separadamente para cada uma das duas principais áreas do estudo: Sul da Califórnia e Tennessee/Mississippi. Os dados são expressos como valores da média \pm SEM, excepto se afirmado contrariamente. Os grupos de tratamento foram comparados relativamente a cada um dos parâmetros avaliados com os valores basais, usando-se um t-test de Student ou um ensaio de Wilcoxon de duas amostras, conforme adequado. O teste exacto de Fisher foi usado para avaliação da probabilidade para variáveis com distribuição binomial. Todos os cálculos foram realizados, usando-se o Sistema de Análise Estatística (SAS). Um valor de p inferior a 0,05 foi considerado significativo.

RESULTADOS

Sessenta e quatro doentes com hiperparatiroidismo secundário moderado a grave (PTH intacta, entre 266 e 3644 pg/ml) que tinham participado no anterior **Estudo 2** acabaram o período de tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ de 12 semanas por via intravenosa, com a dose inicial de 4 ug por hemodiálise. Os dados foram analisados separadamente para os dois locais do estudo: a Califórnia

e o Tennessee/Mississippi. Os níveis plasmáticos basais de PTH intacta e os níveis séricos basais de Ca e de P, foram definidos pelo valor da média durante as três últimas semanas do período de observação basal, e no final da 12ª semana de tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ para este grupo de 64 doentes durante o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$, intermitente por via oral no **Estudo 2** e, subsequentemente, durante o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$, intermitente, por via parentérica, neste **Estudo 3** e que são apresentados no Quadro II-12.

Quadro II-12: Níveis plasmáticos de PTH intacta, níveis séricos de Ca e de P: valores basais e na 12º semana, durante administração de $1\alpha\text{D}_2$ de forma intermitente quer por via oral (**estudo 2**) quer por via parentérica (**estudo 3**).

Oral (Estudo 2)

Intravenoso (Estudo 3)

Califórnia	Valor Basal	12ª Semana	Valor Basal	12ª Semana
PTH intacta (pg/ml)	788 ± 69	330 ± 48*	705 ± 69	405 ± 71*
Ca	9,1 ± 0,14	9,8 ± 0,20*	9,1 ± 0,13	9,9 ± 0,16*
P	4,7 ± 0,17	5,3 ± 0,26*	4,6 ± 0,27	5,0 ± 0,32
Tennessee/Mississippi	Valor Basal	12ª Semana	Valor Basal	12ª Semana
PTH intacta (pg/ml)	1046 ± 97	447 ± 74*	771 ± 68#	421 ± 63*
Ca	9,0 ± 0,11	9,6 ± 0,14*	9,0 ± 0,11	9,5 ± 0,13*
P	4,8 ± 0,14	5,5 ± 0,21*	5,0 ± 0,16	5,9 ± 0,23*

12ª Semana em comparação com o Valor Basal: * $p < 0,05$; Via Parentérica em comparação com via Oral: # $p < 0,05$.

Os episódios de hipercalcemia definidos por um nível sérico de Ca superior a 11,2 mg/dl, foram assintomáticos em todas as ocasiões, e ocorreram em 7,1% e 10,7% dos doentes na Califórnia durante o período de observação basal e durante o período de 12 semanas de tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ por via intravenosa, respectivamente. No Tennessee/Mississippi, ocorreram episódios de hipercalcemia em 2,4% e 11,9 % dos doentes durante o período de observação basal e durante o período de 12 semanas de tratamento com $1\alpha\text{D}_2$, respectivamente. Os episódios de hiperfosfatemia significativa definidos por um nível sérico de P superior a 8,0 mg/dl ocorreram em 21,4% e 14,3% dos doentes na Califórnia durante o período de observação basal e durante o período de 12 semanas de tratamento com $1\alpha\text{D}_2$, respectivamente. No Tennessee/Mississippi, ocorreram episódios de hiperfosfatemia em 16,7% e 35,7% dos doentes durante o período de observação basal e durante o período de 12 semanas de tratamento com $1\alpha\text{D}_2$, respectivamente.

As incidências de hipercalcemia e hiperfosfatemia, representadas pelo número de episódios por 100 semanas de tratamento e por doente, durante o período de observação basal e durante o período de tratamento de 12 semanas com $1\alpha\text{D}_2$ administrado por via oral (**Estudo 2**) ou com $1\alpha\text{D}_2$ por via parentérica (**Estudo 3**) para este grupo de 64 doentes, são apresentados no Quadro II-13.

Quadro II-13. Incidência de episódios de hipercalcemia e hiperfosfatemia durante o período de observação basal e subsequentemente durante o período de tratamento com 1 α D2 quer por via oral (**Estudo 2**) quer por via parentérica (**Estudo 3**).

Oral (Estudo 2)

Intravenoso (Estudo 3)

	Período de Observação Basal	Período de Tratamento (12 semanas)	Período de Observação Basal	Período de Tratamento (12 semanas)
Califórnia				
Hipercalcemia	0,0	4,5*	1,0	1,0#
Hiperfosfatemia	0,5	2,4	0,5	1,4
Tennessee/Mississippi.	Período de Observação Basal	Período de Tratamento (12 semanas)	Período de Observação Basal	Período de Tratamento (12 semanas)
Hipercalcemia	0,0	2,7*	0,0	0,8#
Hiperfosfatemia	0,0	5,2*	1,3	2,9

Período de Tratamento de 12 semanas em comparação com o Período de Observação Basal: * $p < 0,05$; Via parentérica de administração em comparação com via oral: # $p < 0,05$.

C- DISCUSSÃO E CONCLUSÕES DOS ENSAIOS CLÍNICOS

Dado o baixo índice terapêutico do calcitriol, quer administrado por via intravenosa ou oralmente, tem havido uma intensa pesquisa de outros compostos derivados da vitamina D que possam suprimir a secreção de PTH sem induzirem hipercalcemia e hiperfosfatemia.

Num pequeno estudo piloto previamente realizado pelo meu grupo (147), depois de oito semanas de um período de observação basal em que foi feita a suspensão da terapêutica com calcitriol, iniciou-se em vinte e quatro doentes em hemodiálise um tratamento com $1\alpha D_2$ na dose de 4 μg , diariamente, ou, alternativamente, 4 μg três vezes por semana. Procedeu-se a ajustamentos posológicos durante as doze semanas com o objectivo de manter os níveis plasmáticos de PTH intacta entre os valores alvo de 130 e 250 pg/ml. Os níveis plasmáticos de PTH intacta diminuíram de 672 ± 70 pg/ml pré-tratamento para 289 ± 36 pg/ml pós-tratamento ($p < 0.05$). A diminuição individual máxima dos níveis plasmáticos de PTH intacta variou entre 48 e 96%, com 87.5% dos doentes atingindo os valores-alvo pré-definidos. Os níveis séricos do cálcio subiram discretamente de 8.8 ± 0.2 mg/dl pré-tratamento para 9.5 ± 0.2 mg/dl pós-tratamento. Só num caso a presença de hipercalcemia ligeira (nível de cálcio sérico acima de 11.2 mg/dl) condicionou a suspensão do tratamento. A dose oral de 4 μg quer administrada diariamente, quer administrada três vezes por semana, mostrou-se altamente eficaz na supressão do hiperparatiroidismo secundário nos doentes hemodialisados, e apresentou um elevado índice de segurança, mesmo tendo sido utilizados como quelantes do fósforo exclusivamente compostos com teor em cálcio.

O **Estudo 1** demonstra que o derivado da vitamina D, a $1\alpha D_2$, quando administrado oralmente na dose de 10 μg três vezes por semana, é tão eficaz e seguro para o tratamento de hiperparatiroidismo secundário moderado a grave em doentes hemodialisados como na dose diária de 4 μg . A prevalência de hipercalcemia e hiperfosfatemia não diferiu nos dois regimes

posológicos os quais condicionaram uma dose total semanal semelhante de 28 a 30 µg. De acrescentar que os nossos resultados em quatro outros doentes tratados com os regimes de administração de $1\alpha D_2$ na dose de 10µg e na dose de 4 µg, ambos administrados três vezes por semana, mostram um perfil de segurança semelhante. No que respeita à eficácia, os nossos resultados podem sugerir ausência de vantagem do regime de 10µg três vezes por semana face ao regime de 4µg três vezes por semana; verificou-se contudo que seis dos catorze doentes que originalmente foram tratados com 4µg três vezes por semana tiveram necessidade de um aumento de dose para 4µg diários afim de se obter uma supressão significativa da iPTH (147). Os estudos que eu realizei e o ensaio anterior do meu grupo de trabalho (147) com $1\alpha D_2$ distinguem-se de outros estudos previamente realizados com calcitriol por incluírem como objectivo um nível plasmático alvo específico de PTH intacta de cerca de 150 a 300 pg/ml o qual está associado a taxas normais de remodelação óssea e a alterações mínimas ou mesmo ausência de características de hiperparatiroidismo secundário nos doentes com insuficiência renal crónica terminal (5,65,66).

Os resultados do **Estudo 1** e os dados anteriores (147) constituíram o fundamento para o **Estudo 2**. Neste estudo multicêntrico a dose inicial seleccionada para todos os doentes foi de 10µg administrados oralmente em cada hemodiálise de forma a obviar problemas de não adesão terapêutica frequentemente presentes na administração diária do produto.

O **Estudo 2** mostra que a utilização intermitente de $1\alpha D_2$ por via oral é altamente eficaz na supressão dos níveis plasmáticos de iPTH em doentes hemodialisados com hiperparatiroidismo secundário de graus moderado a grave sendo estes resultados semelhantes aos obtidos num ensaio piloto de menor dimensão também com a administração de $1\alpha D_2$ (147). Esta supressão dos níveis plasmáticos de PTH intacta foi acompanhada de uma ligeira elevação dos níveis séricos de cálcio os quais se mantiveram, contudo, dentro dos limites normais. Os resultados deste ensaio também demonstraram que os níveis plasmáticos de PTH intacta subiram rapidamente quando se converteu a administração de $1\alpha D_2$ numa administração de placebo durante o período de tratamento

duplamente cego controlado; no grupo em que os doentes foram convertidos para a administração de placebo verificou-se que a média dos níveis plasmáticos de PTH intacta subiram para valores sobreponíveis aos valores de base pré-tratamento pelo 4ª semana de tratamento com placebo. Este achado que é essencialmente original, está de acordo com anteriores resultados obtidos num pequeno número de doentes pediátricos hemodialisados aos quais foi suspensa a terapêutica com o calcitriol (160). Resultados anteriores sugerindo que a terapêutica com doses intermitentes de calcitriol condicionava a regressão significativa das glândulas paratiróideias (48,53) não foram confirmados em estudos subsequentes nem tão pouco em animais de experiência com uremia e hiperparatiroidismo secundário (77,161,162). Este aumento rápido da secreção de PTH após a suspensão da $1\alpha D_2$ sugere que este composto tem pouco ou nenhum efeito no tamanho da glândula paratiróideia quando administrado por um período de quatro meses. É possível que um tratamento mais prolongado tivesse um impacto na involução da hiperplasia desta glândula.

Os resultados do **Estudo 2** mostram que o tempo necessário para suprimir os níveis plasmáticos de PTH intacta aumenta com a gravidade do hiperparatiroidismo; também mostram que são necessárias doses maiores de $1\alpha D_2$ para suprimir a secreção de PTH intacta nos doentes com hiperparatiroidismo grave comparativamente aos doentes com formas ligeiras ou moderadas. Nos doentes com níveis plasmáticos de PTH intacta inferiores a 1200 pg/ml a supressão da secreção de PTH intacta para valores dentro da margem alvo obtinha-se num máximo de doze semanas. Pelo contrário, doentes com níveis de iPTH superiores a 1200 pg/ml apresentavam uma diminuição mais lenta e progressiva dos níveis de PTH intacta durante as 24 semanas de tratamento com $1\alpha D_2$. A verificação da necessidade de um tempo significativo mais prolongado para que se verifique uma diminuição dos níveis plasmáticos de PTH intacta para os valores desejados está de acordo com anteriores resultados relativos à utilização intravenosa do calcitriol (54,83,163). Llach et al (54) reportaram o tratamento bem sucedido em dez doentes hemodialisados com níveis plasmáticos de PTH intacta superiores a 1200 pg/ml utilizando doses

elevadas de calcitriol por via intravenosa de forma intermitente durante um período de tempo de 40 a 72 semanas. O mecanismo para uma resposta tardia não é claro, mas poder-se-á dever a um reajustamento lento dos receptores da vitamin D os quais se sabe estarem reduzidos nas glândulas paratiróideias de grandes dimensões com hiperplasia nodular (89). No **Estudo 2** a administração intermitente por um período de 24 semanas de doses elevadas de $1\alpha D_2$ suprimiu eficazmente a secreção de PTH pelas glândulas paratiroideias, mesmo em doentes com hiperparatiroidismo secundário muito grave.

Apesar da marcada supressão dos níveis plasmáticos de PTH intacta na maioria da população estudada nem todos os doentes evidenciaram redução dos níveis de PTH intacta. Assim 18 dos 99 doentes não sofreram uma redução de pelo menos 50% dos seus níveis plasmáticos de PTH intacta em pelo menos duas ou mais determinações; estes doentes tinham valores de iPTH pré-tratamento entre 978 pg/ml e 3643 pg/ml, à excepção de um doente cujo valor basal era de 392 pg/ml. Estes resultados sugerem que alguns doentes com formas mais graves de hiperparatiroidismo secundário continuam a não ser susceptíveis ao tratamento com formas activas da vitamina D, mesmo esta forma agora estudada, a $1\alpha D_2$, não evidenciando supressão da secreção de PTH.

O efeito do tratamento com $1\alpha D_2$ nos níveis séricos de cálcio foi pequeno, no entanto, com um aumento estatisticamente significativo da média do nível sérico de cálcio para um nível estável ligeiramente mais elevado mas clinicamente aceitável. Houve um aumento da frequência dos episódios de hipercalcemia os quais foram eficazmente controlados com a redução da dose ou a suspensão do tratamento pela $1\alpha D_2$, e/ou com a redução das doses de quelantes do fósforo contendo cálcio. Não houve aumento do número de episódios de hipercalcemia quando as doses de $1\alpha D_2$ foram aumentadas para 60 μ g por semana em comparação com os resultados prévios do **Estudo 1**, em que a dose máxima usada foi de 30 ug por semana, e em comparação com o anterior

estudo piloto (147) em que a dose maxima semanal foi de 28 ug, sendo este facto mais um dado a favor do perfil de segurança da $1\alpha D_2$.

Os resultados do **Estudo 2**, que mostraram uma pequena, mas estatisticamente significativa, subida dos níveis séricos de P durante a fase aberta do ensaio em comparação com os níveis verificados no período de observação basal, contrastam com a verificação de discretas diferenças, não significativas, nos níveis séricos de P encontrados durante o período duplamente cego. Assim durante este período os níveis séricos de P dos grupos de doentes que receberam placebo e daqueles que receberam $1\alpha D_2$ não foram diferentes. Para os doentes serem elegíveis para passar da fase de observação basal para a fase de ensaio aberto era necessária uma adesão apropriada à restrição dietética de fósforo e à ingestão de doses apropriadas de quelantes do fósforo; posteriormente, já na fase de ensaio aberto, os doentes não eram retirados do estudo mesmo que se verificassem elevações do P sérico. Estas observações sugerem que as diferenças entre os níveis séricos de P respeitantes aos períodos de observação basal e de ensaio aberto se devem em grande parte a uma diminuição da adesão dos doentes à restrição dietética do fósforo e/ou à ingestão de doses elevadas de agentes quelantes do fósforo; os efeitos da administração de $1\alpha D_2$ nos níveis séricos de fósforo são pequenos ou inexistentes.

Os resultados do **Estudo 2** mostram um declínio nos níveis da fosfatase alcalina óssea de aparecimento muito precoce, não significativo às quatro semanas, data da primeira avaliação, mas que se vai acentuando sendo já significativo na semana 16. Estes dados indiciam um efeito da administração de $1\alpha D_2$ no osso, que poderá ser de natureza indirecta mediado pela supressão da dos níveis plasmáticos de PTH intacta, ou de de natureza directa deste derivado da vitamina D a nível ósseo, ou mais provavelmente devido a estes dois mecanismos. A subida inicial de osteocalcina é consistente com uma acção da vitamina D estimulante da libertação de osteocalcina pelos osteoblastos (164,165,166), enquanto a sua redução evidenciada mais tardiamente está muito provavelmente relacionada com a marcada supressão da secreção de PTH.

A correlação verificada entre a dose oral média administrada de $1\alpha D_2$ e os níveis plasmáticos pré-diálise de $1\alpha,25-(OH)_2D_2$ indicam que, para a população como um todo, os níveis plasmáticos do composto activo da vitamina D derivado $1\alpha D_2$ são previsíveis a partir de uma determinada dose oral administrada de $1\alpha D_2$.

Os resultados do **Estudo 3** mostram que a administrada por via intravenosa, três vezes por semana durante o tratamento hemodialítico é tão segura e eficaz no tratamento do hiperparatiroidismo secundário dos doentes hemodialisados como quando é administrada por via oral três vezes por semana. A incidência de episódios de hipercalcemia foi particularmente baixa, especialmente se considerarmos que se utilizaram somente agentes quelantes do fósforo contendo cálcio. De salientar ainda que a incidência de episódios de hipercalcemia foi significativamente menor com a administração intravenosa de $1\alpha D_2$ quando comparada com a administração oral. O perfil de segurança da administração intravenosa, intermitente de $1\alpha D_2$ parece ser ainda mais favorável do que quando se administra este composto por via oral de forma intermitente.

Estes estudos distinguem-se da maior parte dos estudos sobre o tratamento do hiperparatiroidismo secundário em doentes em hemodiálise com calcitriol por incluírem como objectivo uma redução da iPTH para um nível sérico alvo específico de 150 a 300 pg/ml o qual está associado a taxas quase normais de remodelação óssea e a alterações mínimas ou mesmo ausência de características de hiperparatiroidismo secundário nos doentes hemodialisados (5,65,66). Nos **estudos 1 e 2**, a $1\alpha D_2$ foi administrada por via oral, por uma enfermeira durante o tratamento hemodialítico para assegurar o controlo de qualquer problema de não adesão à terapêutica por parte dos doentes.

Uma vez que nenhum estudo comparou directamente as acções da $1\alpha D_2$ com a terapêutica em pulsos com calcitriol e com a alfacalcidol ($1\alpha D_3$), não é possível saber como a sua eficácia e segurança se compara à destes fármacos. Importa, portanto, saber como é que os presentes

resultados se comparam com resultados anteriormente publicados sobre os efeitos do tratamento com calcitriol e alfacalcidol nos doentes com insuficiência renal crónica terminal.

Desde 1989 foram publicados doze estudos prospectivos que incluíram um total de 309 doentes adultos tratados com calcitriol oral ou intravenoso pelo menos durante três meses. Excluíram-se todos os estudos que incluíram doentes com hiperparatiroidismo ligeiro usando-se como critério um valor médio de iPTH inferior a 450 pg/ml (56,76). Também se excluíram os estudos que utilizaram a determinação de fragmentos da PTH por imunoensaio o que não permite comparações com os resultados que utilizam a determinação dos níveis de PTH intacta (41,49). Vários estudos incluíram apenas dez ou menos doentes devendo os seus resultados serem encarados com reserva.

Em vários estudos foram utilizados quelantes contendo alumínio isoladamente ou em associação com carbonato ou acetato de cálcio para controlo da hiperfosfatemia (53,73,74,77,81,83). É provável que o uso de quelantes do fósforo contendo alumínio em vez de doses elevadas de sais de cálcio, tenha permitido a utilização de doses maiores de calcitriol com menor risco de hipercalcemia; contudo existiu o risco potencial da acumulação de alumínio. Em vários destes estudos (53,73,81,83), a supressão máxima média de PTH intacta obtida com a administração de calcitriol foi superior a 50% com um intervalo de 59% a 84%. Estes resultados comparam-se favoravelmente aos obtidos nos presentes estudos com $1\alpha D_2$ em termos de supressão dos níveis de PTH intacta. Nos dois estudos multicêntricos, a supressão máxima de PTH foi inferior 50% (74,77). Assim, no grande estudo multicêntrico de Gallieni et al (74) 24% dos doentes foram considerados como tendo havido falências terapêuticas, fundamentalmente porque a hipercalcemia ou a subida no produto Ca x P limitaram a dose administrada. No estudo multicêntrico de Quarles et al (77), em 47% dos doentes houve falências terapêuticas com a administração de calcitriol; neste estudo os níveis elevados de fósforo sérico frequentemente implicaram uma redução na dose de calcitriol o que contribuiu de forma determinante para a

incidência dessas falências terapêuticas. Nos ensaios clínicos feitos num único centro de diálise que forneceram dados sobre todos os doentes tratados (53,73,81,83), 89% dos doentes apresentou mais de 50% de supressão dos níveis plasmáticos de PTH intacta após a terapêutica com calcitriol. Em alguns outros estudos, apenas o carbonato de cálcio ou o acetato de cálcio foram usados como agentes bloqueadores da absorção intestinal de fósforo (54,55,86,91,167). Dressler et al (75) conseguiram uma impressionante supressão máxima dos níveis de PTH intacta até 92,1% nos 17 doentes tratados com calcitriol, mas o nível sérico médio de Ca na ocasião da supressão máxima dos níveis de PTH intacta foi de 11.3 mg/dl, e o nível sérico médio de P foi de 8,2 mg/dl na ocasião da ultima amostragem. Gonella et al (86) foram obrigados a reduzir a dose de calcitriol em 12 dos 14 doentes tratados por causa da hipercalcemia e/ou hiperfosfatemia, mas os níveis séricos de cálcio e de fósforo não foram referidos. Em todos os doentes, o produto dos níveis séricos de CaXP excedeu 75. Malberti et al. (55) conseguiram uma excelente supressão dos níveis séricos de PTH intacta, mas verificaram hipercalcemia, definida como um nível sérico de Ca ionizado superior a 1,40 mmol/l, em 37% de 145 determinações feitas durante o tratamento com calcitriol. Além disso, o nível sérico de Ca total no fim de quatro meses de tratamento com calcitriol foi de 11,1 mg/dl. Llach, Hervas e Cerezo (54) estudaram 10 doentes com hiperparatiroidismo secundário grave, com um nível plasmático de PTH intacta, pré-tratamento, de 1466 ± 116 (SEM) pg/ml. Os níveis plasmáticos de PTH intacta foram reduzidos até 88% após 16 meses de tratamento com calcitriol. Contudo, o tratamento com calcitriol não era interrompido, excepto se o nível sérico de cálcio excedesse os 12,0 mg/dl e a administração de calcitriol era mantida com uma dose reduzida quando o nível sérico de Ca no soro era entre 11,5 e 11.9 mg/dl. Oettinger et al. (167) deram calcitriol intravenoso a 69 doentes com níveis plasmáticos de PTH intacta acima de 300 pg/ml durante seis meses. O nível plasmático médio de PTH intacta desceu aproximadamente 43%. Os critérios para interromper o fármaco e para o ajustamento da dose de

calcitriol e os níveis séricos máximos de Ca e de P observados nestes doentes não foram incluídos no seu relatório.

A Um-alfa(OH)-vitamina D₃, ou alfacalcidol, tem sido largamente utilizada no Canadá, Europa e Japão para o tratamento de osteodistrofia renal. Visto sofrer a mesma hidroxilação hepática no C-25, tal como a 1 α D₂, os resultados com o uso deste derivado da vitamina D têm interesse. Alguns estudos usaram medições dos níveis plasmáticos de PTH intacta, permitindo comparar com os presentes resultados do uso da 1 α D₂ para o tratamento do hiperparatiroidismo secundário no doente em hemodiálise. Brandi et al (59) administraram alfacalcidol por via intravenosa, 1 ug a 4 ug três vezes por semana, a 21 doentes em hemodiálise durante três meses. Os níveis plasmáticos de PTH intacta desceram 67% nestes doentes; contudo, o nível médio de PTH intacta pré-tratamento era de apenas 231 pg/ml, e os valores estavam dentro dos limites normais em 5 doentes. Apesar do aumento da dose de quelantes de fósforo com alumínio, o nível sérico de P subiu durante o estudo de 5,89 para 7,49 mg/dl; também o nível sérico de Ca subiu de 9,2 para 10,4 mg/dl. Os três doentes com níveis de PTH intacta acima de 1100 pg/ml não responderam à terapêutica. Num outro estudo multicêntrico, Ljunghall et al (168) administraram alfacalcidol intravenoso durante 12 semanas a 51 doentes numa doses de 1 a 4 ug por sessão de hemodiálise. Houve uma redução de 60% de níveis plasmáticos de PTH intacta a partir de um valor médio pré-tratamento de 255 pg/ml; o nível sérico de fósforo subiu de 6,42 para 7,41 mg/dl e também o nível sérico de Ca subiu de 9,2 para 10,4 mg/dl. A redução dos níveis de PTH intacta observada neste estudo teve uma correlação inversa estreita com a subida dos níveis séricos de Ca (r 0 -0,51). Finalmente, Moriniere et al (169) referiram resultados em 17 doentes em hemodiálise seleccionados para o estudo porque o seu hiperparatiroidismo tinha sido resistente à administração de alfacalcidol oral diariamente. Os doentes foram tratados com alfacalcidol intravenoso intermitente, 1 a 4 ug com cada diálise, durante 6 meses. O único agente quelante de fósforo utilizado foi o carbonato de cálcio, e a concentração de Ca no banho de diálise foi reduzida para 2,5

mEq/l. A dose de carbonato de cálcio foi aumentada em aproximadamente 3,1 a 4,9 g de cálcio elementar por dia para se manterem os níveis séricos de P abaixo de 6.3 mg/dl, embora a identificação dos valores obtidos não tenha sido referida. O nível plasmático médio de PTH intacta desceu de 486 para 125 pg/ml, uma redução de 74%, após seis meses de tratamento. O nível sérico médio de Ca subiu de 9,4 para 10,1 mg/dl, mas a distribuição desses valores não foi apresentada.

Os resultados dos **Estudos 1, 2 e 3**, usando a terapia com $1\alpha D_2$ administrada quer por via oral quer por via intravenosa, que utilizaram um nível plasmático alvo de PTH intacta para reduzir ou temporariamente interromper o tratamento, mostram uma supressão máxima dos níveis plasmáticos de PTH intacta que se aproximou dos resultados dos melhores estudos que utilizaram calcitriol intravenoso, e isto ocorreu usando apenas agentes quelantes do fósforo intestinal com base em sais de cálcio. Além disso, observaram-se apenas ligeiros aumentos dos níveis séricos de Ca. Nestes três estudos, a incidência da hipercalcemia e da hiperfosfatemia foi baixa apesar de se usarem doses iniciais elevadas de $1\alpha D_2$. De facto, as doses necessárias de quelantes de fósforo não diferiram durante os períodos basais de observação e os períodos de tratamento.

O papel importante do calcitriol no tratamento do hiperparatiroidismo secundário no doente renal foi reconhecido há mais de 18 anos. A terapêutica convencional com calcitriol oral administrado em doses diárias é limitada pela ocorrência de hipercalcemia e hiperfosfatemia, uma observação que rapidamente levou ao vasto uso da administração intermitente do calcitriol intravenoso como modo alternativo de tratamento (37). Apesar dos resultados inicialmente prometedores da administração de calcitriol por via parentérica e de forma intermitente (37), parece haver poucas diferenças na eficácia ou na incidência de efeitos secundários entre este modo de administração de calcitriol e a administração intermitente por via oral (73,76,77). Os dados apresentados no **Estudo 3** mostram que com a $1\alpha D_2$ a administração por via intravenosa de forma intermitente poderá ser mais segura do que a administração por via oral. De facto, houve menos episódios de hipercalcemia com a administração por via intravenosa de $1\alpha D_2$ (**Estudo 3**) em

comparação com a administração por via oral (Estudo 2).

Desconhece-se o mecanismo pelo qual a $1\alpha\text{D}_2$ suprime a secreção de PTH pela glândula paratiroideia. A $1\alpha\text{D}_2$ é hidroxilada no fígado para $1,25(\text{OH})_2\text{D}_2$, e é provável que este último composto actue directamente ao nível do receptor da vitamina D nas células das glândulas paratiroideias, de forma semelhante ao calcitriol, embora com maior segurança. O pequeno aumento observado no nível sérico de cálcio, que provavelmente está dependente dum aumento da absorção intestinal de cálcio, sem dúvida contribui para o declínio nos níveis plasmáticos de PTH intacta devido à acção do cálcio no CaR da célula paratiroideia. Contudo, nos nossos três estudos houve uma correlação fraca entre as alterações nos níveis séricos de Ca e as dos Níveis plasmáticos de PTH intacta. Vão ser necessários outros estudos para se determinar o mecanismo exacto da acção deste derivado da vitamina D.

Antigamente, a vitamina D_2 (ergocalciferol), que difere da vitamina D_3 (cholecalciferol) apenas na estrutura da cadeia lateral, teve vasto uso por causa do menor custo de produção da vitamina D_2 . Acreditou-se que a vitamina D_2 e a vitamina D_3 eram igualmente potentes em seres humanos e noutros animais mamíferos (138) excepto nos macacos do Novo Mundo; contudo, consideráveis dados sugerem que a vitamina D_2 é menos tóxica do que a vitamina D_3 (139). Há também prova de que existem diferenças na actividade da $1\alpha\text{D}_2$ em comparação com a 1α -hidroxivitamin D_3 ($1\alpha\text{D}_3$). Em ratos deficientes em vitamina D, a $1\alpha\text{D}_2$ é equipotente à $1\alpha\text{D}_3$ em estimular a reabsorção intestinal de cálcio, mobilizar o cálcio ósseo, e promover a cura do raquitismo (140); contudo, é muito menos tóxica do que a $1\alpha\text{D}_3$ em ratos (141) e ratinhos (142) recebendo grandes doses. Além disso, em mulheres pós-menopáusicas (143), o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$, em doses de 2,0 a 5,0 ug/dia, produziu apenas pequenos aumentos no cálcio urinário, tendo sido referida hipercalciúria franca durante o tratamento com doses menores de $1\alpha\text{D}_3$ (170,171). Estas observações e os presentes estudos em doentes sujeitos a hemodiálise com hiperparatiroidismo secundário sugerem fortemente que a $1\alpha\text{D}_2$ exerce menos efeito calcémico do

que a $1\alpha D_3$ ou a sua forma "activa", o calcitriol.

Os mecanismos responsáveis pela diferença entre as acções dos derivados da vitamina D com a cadeia lateral da vitamina D_2 comparados com aqueles que têm a cadeia lateral da vitamina D_3 são incertos. A base molecular para a selectividade dos derivados da vitamina D com importância terapêutica foi objecto de considerável investigação. Em geral, as acções dos compostos da vitamina D são determinados pelas suas interacções com três proteínas: o VDR, a proteína de transporte da vitamina D no soro (PTVD), e a 24 hidroxilase da vitamina D (172).

Ligação Alterada ao VDR: a maior parte das actividades biológicas dos compostos da vitamina D são mediadas por um receptor nuclear que se liga à $1,25(OH)_2D_3$ com grande afinidade e especificidade. A ligação da vitamina D ao seu receptor reforça muito a interacção dos VDR com outro factor de transcrição, o receptor do retinóide X (RXR). O heterodímero VDR/RXR liga-se a sequências específicas de DNA em genes alvo e altera a taxa de transcrição destes genes para o ARNm. Os catabolitos da $1,25(OH)_2D_3$ ligam-se com muito menor afinidade ao VDR e por isso são muito menos activos. Uma necessidade óbvia, relativamente aos derivados da vitamina D terapêuticamente úteis, é ligarem-se bem ao VDR, pelo menos no(s) tecido(s) ou célula(s) alvo. A porção estrutural do derivado da vitamina D que é fundamental para a ligação com VDR é o anel-A que contém o grupo 1α -hidroxil. Outras porções da molécula, tais como a cadeia lateral, podem ser grandemente modificadas com um efeito mínimo sobre a afinidade de ligação da molécula ao VDR. Contudo, a afinidade da molécula para o VDR não é a única determinante da activação mediada por este receptor. A capacidade de muitos derivados da vitamina D reterem as propriedades terapêuticamente úteis de $1,25(OH)_2D_3$ com muito menos actividade calcémica deram origem à hipótese de que poderá haver múltiplas formas do VDR que podem reconhecer alguns, mas não todos, os compostos da vitamina D. Foi proposto que o intestino e o osso podiam expressar uma forma de VDR que faz a discriminação para os análogos da vitamina D com menos efeito calcémico. Actualmente, não houve nenhum estudo que tivesse confirmado esta hipótese da

existência de múltiplas formas do VDR, mas a possibilidade não pode ser excluída em absoluto.

Interação com o PTVD: O "principal transportador da vitamina D" na circulação é a PTVD sérica. Esta proteína está presente em quantidade excessiva e liga-se a todos os metabolitos naturais da vitamina D. Outras proteínas, tais como a albumina e as lipoproteínas, também podem ligar-se a compostos da vitamina D. No caso da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, mais de 99% é transportada ligada às proteínas, sobretudo à PTVD. Os elementos estruturais da molécula dos compostos da vitamina D que afectam a sua ligação à PTVD são diferentes daqueles que afectam a sua interacção com o VDR. O grupo 1α -hidroxil não é necessário para a ligação à PTVD. É a modificação da cadeia lateral que pode alterar de forma significativa a ligação de um derivado da vitamina D à sua proteína de transporte. O PTVD parece desempenhar duas funções principais relativamente aos compostos da vitamina D: aumenta a sua semi-vida circulante e, de forma importante no caso de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e dos seus derivados, diminui a acessibilidade aos tecidos. Desta forma, o PTVD actua como um reservatório para compostos activos da vitamina D e tem um papel primordial na protecção contra a intoxicação por vitamina D. Farmacologicamente, a afinidade de um determinado derivado da vitamina D para o PTVD pode influenciar significativamente a actividade desse composto. Uma farmacocinética alterada parece ter uma função primordial em determinar o carácter único do perfil biológico de vários dos análogos. A maioria dos derivados da vitamina D que estão a ser desenvolvidos actualmente são modificados na cadeia lateral, e em quase todos os casos isto vai reduzir a sua interacção com o PTVD, fazendo com que o análogo seja rapidamente removido da circulação ou seja deficientemente absorvido a nível intestinal para a circulação. Por exemplo para o análogo 22-oxa- $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ a afinidade com a PTVD é cerca de 500 vezes inferior à afinidade da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Por consequência, este análogo é removido da circulação mais rapidamente do que a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e atinge níveis de pico mais baixos após injeção. Assim a administração intermitente deste composto, a 22-oxa- $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ contribuiu apenas com um aumento transitório do transporte intestinal de Ca. Em contraste com esta acção calcémica

transitória, este tratamento provoca um efeito mais prolongado sobre os níveis plasmáticos de PTH intacta e dos níveis do PTH mRNA. A base molecular para a diferente duração de efeitos deste derivado da vitamina D em dois órgãos alvo diferentes é obscura. No entanto, estas observações sugerem que o efeito da vitamina D no transporte intestinal de cálcio requer uma exposição mais contínua dos receptores intestinais.

Metabolismo pela Vitamina D 24-Hidroxilase: O metabolismo da vitamina D também pode desempenhar um papel importante na selectividade dos derivados da vitamina D. O metabolismo ao nível da célula-alvo é importante noutros sistemas hormonais esteróides. No tecido reactivo a mineralocorticóides, os glucocorticóides têm igual afinidade para o receptor que medeia as acções da aldosterona. A selectividade é conseguida nestes tecidos pela eficiente degradação local dos glucocorticóides, tornando-os indisponíveis ao receptor. Alternativamente, as células podem converter hormonas em metabolitos mais activos, como na conversão da tiroxina (T4) em triiodotiroxina (T3) ou da estrona (E1) em estradiol (E2). A via principal para o metabolismo celular de todos os compostos da vitamina D implica uma série de reacções de oxidação nos carbonos 24 e 23, resultando numa clivagem das cadeias laterais. Estas reacções são catalisadas por enzima que é a vitamina D 24-hidroxilase. A enzima é altamente induzida pela $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (e os seus derivados), sendo geralmente aceite que o metabolismo da cadeia lateral tem uma função atenuante sobre a actividade da vitamina D. Os metabolitos intermediários de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ produzidos por esta via de metabolização têm uma afinidade para o VDR mais baixa e são menos activos. Porque o local mais comum de modificação dos derivados da vitamina D é a cadeia lateral, seria de esperar que o seu metabolismo diferisse do da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Diferenças nas taxas de metabolização ou dos produtos finais do metabolismo puderam afectar significativamente a actividade biológica dos derivados da vitamina D. A rápida degradação intracelular iria obviamente reduzir a actividade biológica global de um análogo, mas pode também produzir os efeitos próprios da aceleração metabólica anteriormente descrita com o composto 22-oxa-

1,25(OH)₂D₃. Porque os derivados da vitamina D podem activar a expressão genética da 24-hidroxilase, o conteúdo na célula alvo destes derivados poderá ser reduzido por esta enzima catabólica. Foi demonstrado no homem que a vitamina D₂ sofre, de forma única, uma significativa hidroxilação na posição do carbono 24 da cadeia lateral (173); esta diferença de conversão metabólica poderá ser responsável pelas variadas potências e acções.

Os **Estudos** apresentados nesta tese demonstram inequivocamente que o metabolito activo da vitamina D, a 1 α D₂, quando administrada nos regimes posológicos estudados, é eficaz e segura no tratamento de doentes com insuficiência renal crónica terminal em hemodiálise com hiperparatiroidismo secundário, moderado a grave. O perfil da segurança deste derivado é ainda reforçado por não se ter observado uma frequência aumentada na hipercalcemia com a dose de 10 ug três vezes por semana em comparação com a dose de 4 ug três vezes por semana, como se observou no **Estudo 1**. Além do mais, nos três estudos realizados as doses de quelantes de fósforo necessárias para o controlo dos níveis séricos de fósforo não foram diferentes durante os períodos de tratamento com 1 α D₂ quando comparadas com as doses de quelantes administradas aos doentes durante os períodos de observação basal, no pré-tratamento. Esta última observação realça um efeito muito pequeno ou mesmo nulo da administração de 1 α D₂ nos níveis séricos de fósforo.

A Um- α -hidroxivitamina D₂ é assim uma alternativa segura ao calcitriol e ao alfalcidol para o tratamento do hiperparatiroidismo secundário nos doentes com insuficiência renal crónica e poderá vir a ser o derivado da Vitamina D usado preferencialmente nesta população de doentes. No entanto vão ser necessários outros estudos a realizar no futuro que comparem directamente este composto com os metabolitos da vitamina actualmente usados na prática clínica.

LEGENDAS PARA AS FIGURAS:

Figura II-1. Níveis séricos médios para PTH intacta, cálcio e fósforo em doentes tratados com $1\alpha\text{D}_2$ por via oral em doses diárias (4ug antes do pequeno almoço) e subsequentemente com $1\alpha\text{D}_2$ por via oral, de forma intermitente 10 ug/3 vezes por semana após a hemodiálise. Os dados são valores médios \pm SEM, n=6. Os níveis séricos basais de PTH intacta, Ca e P não foram diferentes entre os dois grupos. Em ambos os esquemas posológicos os níveis de PTH intacta foram suprimidos de forma comparável. Houve um aumento mínimo mas significativo nos níveis séricos de Ca tanto com a administração diária como com a administração intermitente. Não houve alteração significativa nos níveis séricos de fósforo com qualquer dos tratamentos. N.S.= Não Significativo.

Figura II-2. Os níveis séricos de PTH intacta para cada doente tratado com $1\alpha\text{D}_2$ em doses diárias, (4ug antes do pequeno almoço) e subsequentemente com $1\alpha\text{D}_2$ em dose intermitente (10 ug/3 vezes por semana após hemodiálise) mostrando o nível de pré-tratamento (Basal), e o valor mais baixo durante o tratamento com $1\alpha\text{D}_2$ ($1\alpha\text{D}_2$). A Figura inclui 6 indivíduos; são usados símbolos diferentes para o mesmo doente em ambos os estudos. Cada doente apresentou um declínio do nível basal de PTH intacta; em 5 dos 6 doentes a supressão da PTH intacta foi superior a 50% do nível basal.

Figura II-3. Alterações dos níveis séricos de PTH intacta para cada doente, individualmente, tratado com $1\alpha\text{D}_2$ em doses intermitentes, 4 ug/3 vezes por semana (painel da esquerda) e subsequentemente com 10 ug/3 vezes por semana (painel da direita). A $1\alpha\text{D}_2$ baixou os níveis de PTH intacta para mais de 50% dos níveis basais em todos os doentes com ambos os regimes

posológicos.

Figura II-4. Níveis séricos médios para a PTH intacta, o cálcio e o fósforo em doentes tratados com $1\alpha D_2$, administrado de forma intermitente, 4 ug/3 vezes por semana e subsequentemente com 10 ug/3 vezes por semana. Os dados são valores médios \pm SEM, n=4. Os níveis séricos basais de PTH intacta, Ca e P não foram diferentes entre os dois grupos. Ambas as doses de tratamento intermitente baixaram os níveis de PTH intacta num grau comparável. Houve um pequeno aumento no nível sérico de Ca com ambos os regimes posológicos, mas não houve alteração significativa do nível sérico de fósforo. N.S. = Não significativo

Figura II-5. Alterações dos níveis plasmáticos de PTH intacta (iPTH); os resultados são apresentados como valores percentuais do valor basal (Semana 0). Todos os doentes receberam $1\alpha D_2$ durante o período de tratamento aberto, tendo depois, ao acaso, sido continuados com tratamento com $1\alpha D_2$ (Linha escura) ou para tratamento com placebo (linha sombreada mais clara). Os dados são valores médios \pm SE.

Significativamente diferente do valor basal: * $p < 0,001$; Diferença significativa entre o grupo a receber placebo e o grupo que continuou tratamento com $1\alpha D_2$: # $p < 0,01$; ## $p < 0,001$.

Figura II-6. Valores séricos de cálcio (S-Ca) e de fósforo (S-P) durante o tratamento de com $1\alpha D_2$ rotulo aberto ($1\alpha D_2$) e depois de os doentes terem entrado no período duplamente cego, um grupo continuou tratamento com $1\alpha D_2$ (Linha escura) e um grupo recebeu placebo (linha sombreada mais clara). Os dados são valores médios \pm SE.

Significativamente diferente do valor basal (semana 0): * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$. Diferença significativa entre o grupo que recebeu tratamento com placebo e o grupo que recebeu $1\alpha D_2$: # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$.

Figura II-7. Níveis plasmáticos de PTH intacta (média \pm SE) em três grupos divididos de acordo com os níveis plasmáticos basais de PTH intacta: Grupo I, PTH intacta < 600 pg/ml, Grupo II, PTH intacta entre 600 e 1200 pg/ml, e Grupo III, PTH intacta > 1200 pg/ml. As linhas pontiadas encerram a margem de valores alvo da PTH intacta (150 – 300 pg/ml). O número de doentes antes e após randomização, respectivamente, é de 33 e 16 no Grupo I; 48 e 22 no Grupo II; e 18 e 10 no Grupo III.

a Grupo I difere do Grupo II; b Grupo I difere do Grupo III; c Grupo II difere do Grupo III, para cada $p < 0,05$.

Figura II-8. Predomínio de episódios de hipercalcemia (nível sérico de Ca > 11,2 mg/dl) e de hiperfosfatemia (nível sérico de P > 6,9 mg/dl) durante o período de observação basal (Basal), tratamento com $1\alpha D_2$ de rotulo aberto (Open Rx), e tratamento duplamente cego controlado por placebo (Blinded Rx). Durante tratamento Cego, o grupo tratado com $1\alpha D_2$ é representado pela coluna preta enquanto que o grupo placebo é representado pela coluna sombreada. É calculado o predomínio sob a forma de quantidade de episódios por 100 semanas de observação por doente.

Figura II-9. Alterações nos níveis séricos de fosfatase alcalina óssea durante o tratamento com $1\alpha D_2$ (Onpen Label) e após randomização para tratamento continuado com $1\alpha D_2$ (linha escura) ou placebo (linha sombreada mais clara). Os dados são valores médios \pm SE.

Significativamente diferente do valor basal (semana 0): ** $p < 0,001$. Diferença significativa entre o grupo tratado com placebo e o grupo tratado com $1\alpha D_2$: # $p < 0,05$.

Figura II-10. Doses médias de $1\alpha\text{D}_2$ durante o período de tratamento aberto e após randomização para tratamento continuado de $1\alpha\text{D}_2$ (colunas escuras) ou placebo (colunas sombreadas a claro). Os dados são valores médios \pm SE.

Figura II-11. Níveis plasmáticos de 1,25-dihidroxitamina D_2 de acordo com a dose de $1\alpha\text{D}_2$ (1-Alfa D_2) administrada durante a semana anterior à medição dos níveis. Os dados são apresentados como valores médios \pm SE. Os números de medições são apresentados entre parênteses.

Figura II-12. Doses semanais (média \pm SE) de $1\alpha\text{D}_2$ para os três grupos (I, II,III) estratificadas de acordo com o nível plasmático basal de iPTH como indicado na Figura II-7. **a** Grupo I difere do Grupo II; **b** Grupo II difere do Grupo III; **c** Grupo II difere do Grupo III, para cada $p < 0,05$.

REFERÊNCIAS:

- 1 - Sherrard DJ, Baylink DJ, Wergedal JE, Maloney N. Quantitative histological studies on the pathogenesis of uremic bone disease. *J Clin Endo Metab* 39:119-135, 1974.
- 2 - Ott SM, Maloney NA, Coburn JW, Alfrey AC, Sherrard DJ. The prevalence of bone aluminum deposition in renal osteodystrophy and its relation to the response to calcitriol therapy. *N Engl J Med* 307:709-714, 1982.
- 3 - Andress DL, Maloney NA, Endres DB, Sherrard DJ. Aluminum-associated bone disease in chronic renal failure: High prevalence in a long-term dialysis population. *J Bone Miner Res* 1:391-398, 1986.
- 4 - Hercz G, Pei Y, Greenwood C, Manuel A, Saiphoo C, Goodman WG, Segre GV, Fenton S, Sherrard DJ. Aplastic osteodystrophy without aluminum: The role of "suppressed" parathyroid function. *Kidney Int* 44:860-866, 1993.
- 5 - Sherrard DJ, Hercz G, pei Y, Maloney NA, Greenwood C, Manuel A, Saiphoo C, Fenton SS, Segre GV. The spectrum of bone disease in end-stage renal failure: An evolving disorder. *Kidney Int* 43:436-442, 1993.
- 6 - Wang M, Hercz G, Sherrard DJ, Maloney NA, Segre GV, Pei Y. Relationship between intact 1-84 parathyroid hormone and bone histomorphometric parameters in dialysis patients without aluminum toxicity. *Am J Kid Dis* 26:836-844, 1995.

7 - Silver J, Russel J, Sherwood LM. Regulation by vitamin D metabolites of messenger ribonucleic acid for preproparathyroid hormone in isolated bovine parathyroid cells. Proc Nat Acad Sci (USA) 82:4270-4273, 1985.

8 - Russell J, Lettieri D, Sherwood LM. Suppression by $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ of transcription of the parathyroid hormone gene. Endocrinol 119:2864-2866, 1986.

9 - Wilson L, Felsenfeld AJ, Drezner MK, Llach F. Altered divalent ion metabolism in early renal failure: Role of $1,25\text{-}(\text{OH})_2\text{D}$. Kidney Int 27: 565-573, 1985.

10 - Demay MB, Kiernan MS, DeLuca HF. Sequences in the human parathyroid hormone gene that binds the $1,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ receptor and mediates transcriptional repression in response to $1,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$. Proc Natl Acad Sci USA 89:8097-8101, 1992.

11 - Demay MD, Gerardi JM, DeLuca HF, Kronenberg HM. DNA sequences in the rat osteocalcin gene that bind the $1,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ receptor and confer responsiveness to $1,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$. Proc Natl Acad Sci USA 89:8097-8101, 1992.

12 - Naveh-Many T, Marx R, Keshet E, Pike JW, Silver J. Regulation of $1,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ receptor gene expression by $1,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ in the parathyroid in vivo. J Clin Invest 86: 1968-1975, 1990.

13 - Merke J, Hugel U, Zlotkowski A, Szabo A, Bommer J, Mall G, Ritze E. Diminished parathyroid $1,25\text{-}(\text{OH})_2\text{D}_3$ receptors in experimental uremia. Kidney Int 32: 350-353, 1987.

14 - Brown AJ, Duso 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* 35:19-23, 1989.

15 - Denda M, Finch J, Brown AJ, Nishi Y, Kubodera N, Slatopolsky E. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and 22-oxacalcitriol prevent the decrease in vitamin D receptor content in the parathyroid glands of uremic rats. *Kidney Int* 50:34-39, 1996.

16 - Sherwood LM, Mayer GP, Ramberg CF. Regulation of parathyroid hormone secretion: proportional control by calcium: lack of effect of phosphate. *Endocrinology* 83:1043-1051, 1968.

17 - Sherwood LM, Herrman I, Barrett CA. Parathyroid hormone secretion in vitro: Regulation by calcium and magnesium ion. *Nature* 225: 1056-1061, 1970.

18 - Brown EM, Gamba G, Riccardi D, Lombardi D, Butters R, Kifor O, Sun A, Hediger MA, Lytton J, Hebert SC. Cloning and characterization of an extracellular Ca²⁺ sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature* 366:575-580, 1993.

19 - Gogusev J, Duchambon P, Hory B, Giovannini M, Goureau Y, Sarfati E, Drueke TB. Depressed expression of calcium receptor in parathyroid gland tissue of patients with hyperparathyroidism. *Kidney Int* 51:328-336, 1997.

20 - Kifor O, Moore FD, Wang P, Goldstein M, Vassilev P, Kifor I, Hebert SC, Brown EM. Reduced immunostaining for the extracellular Ca^{2+} -sensing receptor in primary and uremic secondary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 81:1598-1606, 1996.

21 - Felsenfeld AJ, Llach F. Parathyroid gland function in chronic renal failure. *Kidney Int* 43: 771-789, 1993.

22 - Lucas PA, Brown RC, Woodhead JS, Coles G. 1,25-dihydroxycholecalciferol and parathyroid hormone in advanced renal failure: Effect of simultaneous protein and phosphorus restriction. *Clin Nephrol* 25:7-12, 1986.

23 - Lopez-Hilker S, Dusso AS, Rapp NS, Martin KJ, Slatopolsky E. Phosphorus restriction reverses hyperparathyroidism in uremia independent of changes in calcium and calcitriol. *Am J Physiol* 259:F432-F437, 1990.

24 - Kilav R, Silver J, Naveh-Many T. Parathyroid hormone gene expression in hypophosphatemic rats. *J Clin Invest* 96:327-333, 1995.

25 - Naveh-Many T, Rahamimov R, Livini N, Silver J. Parathyroid cell proliferation in normal and chronic renal failure rats: The effects of calcium, phosphate and vitamin D. *J Clin Invest* 96:1786-1793, 1995.

26 - Virchow R. Kalk- Metastasen. *Arch Pathol Anat Physiol* 8:103-107, 1877.

- 27 - Lucas RC. On a form of lat rickets associated with albuminuria, rickets of adolescents. *Lancet* 1:993-994, 1883
- 28 - Parsons LG. The bone changes occurring in renal and coeliac infantilism, and their relation to rickets: I. Renal rickets: *Arch Dis Child* 2:1, 1927.
- 29 - Albright F, Drake TG, Sulkowitch HW. Renal osteitis fibrosa cystica. *Bull Johns Hopkins Hosp* 60:377, 1937.
- 30 - Gilmour JR. *The parathyroid glands and skeleton in renal disease*. Oxford University Press, London, 1947.
- 31 - Dreskin EA, Fox TA. Adult renal osteitis fibrosa with metastatic calcification and hyperplasia of one parathyroid gland. *Arch Int Med* 86:533, 1950.
- 32 - Bricker NS, Slatopolsky E, Reiss E, Avioli LV. Calcium, phosphorus and bone in renal disease and transplantation. *Arch Int Med* 123:543-553, 1969.
- 33 - Bricker NS: On the pathogenesis of the uremic state: An exposition of the "trade-off" hypothesis. *N Engl J med* 286:1093-1099, 1972.
- 34 - Stanbury SW: osteodystrophy developing spontaneously in the course of chronic renal failure. *Arch Int Med* 124:274-281, 1969.

- 35 - Lawson DEM, Fraser DR, Kodicek E, Morris HR, Williams OH. Identification of 1,25 dihydroxy-cholecalciferol, a new kidney hormone controlling calcium metabolism. *Nature* 230:228-230, 1971.
- 36 - Brickman AS, Jowsey J, Sherrard DJ, Singer FR, Baylink DJ, Maloney N, Massry SG, Norman AW, Coburn JW. 1,25 dihydroxycholecalciferol in uremic osteodystrophy. *Arch Intern Med* 134:883-888, 1974.
- 37 - Slatopolsky EA, Weerts C, Thielan J, Horst R, Harter H, Martin KJ. Marked suppression of secondary hyperparathyroidism by intravenous 1,25(OH)₂ D₃ in uremic patients. *J Clin Invest* 74:2136-2142, 1984.
- 38 - Coburn JW, Frazao JM. Calcitriol in the management of renal osteodystrophy: A consideration of how to use calcitriol and when to treat. *Seminars in Dialysis* 9: 316-326, 1996.
- 39 - Brickman AS, Coburn JW, Norman AW. Action of 1,25-dihydroxycholecalciferol, a potent kidney-produced metabolite of vitamin D₃ in uremic man. *N Engl J Med* 287:891-895, 1972.
- 40 - Brickman AS, Hartenbower DL, Norman AW, Coburn JW. Actions of 1 α -hydroxy-and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on mineral metabolism in man. I. Effects on net absorption of phosphorus. *Am J Clin Nutr* 30:1064-1070, 1977.
- 41 - Andress DL, Norris KC, Coburn JW, Slatopolsky EA, Sherrard DJ. Intravenous calcitriol in the treatment of refractory osteitis fibrosa of chronic renal failure . *N Engl J Med* 321:274-279, 1989.

42 - Dunlay R, Rodriguez M, Felsenfeld AJ, Llach F. Direct inhibitory effect of calcitriol on parathyroid function (sigmoidal curve) in dialysis. *Kidney Int* 36:1093-1098, 1989.

43 - Coburn JW, Didomenico NC, Bryce GF, Bassett LW, Shupien SA, Wong EGC, Miller RB, Bennett CM, Gold RH, Mallon JP, Miller ON, Chang PC. Prospective, double-blind trial with calcitriol in the prophylaxis of bone disease in asymptomatic dialysis patients, in *Vitamin D: Chemical, Biochemical, and Clinical Endocrinology of Calcium Metabolism*, edited by Norman AW, Schaefer K, Grigoleit H-G, V. Herrath D, Berlin, deGruyter, 1992, p.833.

44 - Baker LR, Muir JW, Sharman VL, Abrams SM, Greenwood RN, Cattell WR, Goodwin FJ, Marsh FP, Adami S, Hatley W, Hattersly LA, Morgan AG, Papapoulos SE, Revell PA, Tucker AK, Chaput de Saintonge DM, O'Riordan JLH. Controlled trial of calcitriol in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 26:185-191, 1986.

45 - Memmos DE, Eastwood JB, Talner LB, Gower PE, Curtis JR, Phillips ME, Carter GD, Alghband-Zadeh J, Roberts AP, De Wardener HE. Double-blind trial of oral 1,25-dihydroxy vitamin D₃ versus placebo in asymptomatic hyperparathyroidism in patients receiving maintenance haemodialysis. *Br Med J* 282:1919-1924, 1981.

46 - Van Der Merwe WM, Rodger RSC, Grant AC, Logue FC, Cowan RA; Beastall GH, Junor BJR, Briggs JD. Low calcium dialysate and high-dose oral calcitriol in the treatment of secondary hyperparathyroidism in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 5:874-877, 1990.

47 - Fukagawa M, Kitaoka M, Yi H, Fukuda N, Matsumoto T, Ogata E, Kurokawa K. Serial evaluation of parathyroid size by ultrasonography is another useful marker for the long-term prognosis of calcitriol pulse therapy in chronic dialysis patients. *Nephron* 68:221-228, 1994.

48 - Fukagawa M, Orazaki R, Takano K, Kaname S-Y, Ogata E, Kitoaka M, Karada S-I, Sekine N, Matsumoto T, Kurokawa K: Regression of parathyroid hyperplasia by calcitriol-pulse therapy in patients on long-term dialysis. *N Eng J Med* 323:421-422, 1990.

49 - Tsukamoto Y, Nomura M, Takahashi Y, Takagi Y, Yoshida A, Nagaoka T, Togashi K, Kikawada R, Marumo F. The "oral 1,25-dihydroxyvitamin D₃ pulse therapy" in hemodialysis patients with severe secondary hyperparathyroidism. *Nephron* 57:23-28, 1991.

50 - Muramoto H, Haruki K, Yoshimura A, Mimo N, Oda K, Tofuku Y. Treatment of refractory hyperparathyroidism in patients on hemodialysis by intermittent oral administration 1,25(OH)₂D₃. *Nephron* 58:288-294, 1991.

51 - Perez-Mijares R, Gomez-Fernandez P, Almaraz-Jimenez M, Ramos-Diaz M, Rivero-Bohorquez J. Treatment of severe secondary hyperparathyroidism with administration of calcium carbonate, intermittent high oral dose of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and dialysate with 3 mEq/l calcium concentration. *Am J Nephrol* 13:149-154, 1993.

52 - Martin KJ, Ballal HS, Domoto DT, Blalock S, Weindel M. Pulse oral calcitriol for the treatment of hyperparathyroidism in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis: preliminary observations. *Am J Kidney Dis* 19:540-545, 1995.

53 - Cannella G, Bonucci E, Rolla D, Ballanti P, Moriero E, De Grandi R, Augeri C, Claudiani F, Di Naio G. Evidence of healing of secondary hyperparathyroidism in chronically hemodialyzed uremic patients treated with long-term intravenous calcitriol. *Kidney Int* 46:1124-1132, 1994.

54 - Llach F, Hervas J, Cerezo S. The importance of dosing intravenous calcitriol in dialysis patients with severe hyperparathyroidism. *Am J Kidney Dis* 26:845-851, 1995.

55 - Malberti F, Surian M, Cosci P. Effect of chronic intravenous calcitriol on parathyroid function and set point of calcium in dialysis patients with refractory secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 7:822-828, 1992.

56 - Herrmann P, Ritz E, Schmidt-Gayk H, Schafer I, Geyer J, Nonnast-Daniel B, Koch K-M, Weber U, Horl W, Haas-Worle A, Kuhn K, Bierther B, Schneider P. Comparison of intermittent and continuous oral administration of calcitriol in dialysis patients: A randomized prospective trial. *Nephron* 67:48-53, 1994.

57 - Bechtel U, Mucke C, Feucht HE, Shiffl H, Sitter T, Held E. Limitations of pulse oral calcitriol therapy in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 25:291-296, 1995.

58 - Lind L, Wengle B, Wide L, Wrege U, Ljunghall S. Suppression of serum parathyroid hormone levels by intravenous alphacalcidol in uremic patients on maintenance hemodialysis: A pilot study. *Nephron* 48:296-299, 1988.

59 - Brandi L, Daugaard H, Tvedegaard E, Storm T, Olgaard K. Effect of intravenous 1-alpha-hydroxyvitamin D₃ on secondary hyperparathyroidism in chronic uremic patients on maintenance hemodialysis. *Nephron* 53:194-200, 1989.

60 - Moriniere P, Choen-Solal M, Belbrik S, Boudalliez, Marie A, Westeel P, Renaud H, Fievet P, Lalau J, Sebert JL, Fournier A. Disappearance of aluminemic bone disease in a long term asymptomatic dialysis population restricting Al(OH)₃ intake: Emergence of an idiopathic adynamic bone disease not related to aluminum. *Nephron* 53:93-101, 1989.

61 - Hou SH, Zhao J, Ellman CF, Hu J, Griffin Z, Spiegel DM, Bourdeau JE. Calcium and phosphorus fluxes during hemodialysis with low calcium dialysate. *Am J Kidney Dis* 18:217-224, 1991.

62 - Hercz G, Pei Y, Greenwood C, Manuel A, Saiphoo C, Goodman WG, Segre GV, Fenton S, Sherrard DJ. Aplastic osteodystrophy without aluminum: The role of "suppressed" parathyroid function. *Kidney Int* 44:860-866, 1993.

63 - Brown RC, Aston JP, Weeks I, Woodhead S. Circulating intact parathyroid hormone measured by a two-site immunochemiluminometric assay. *J Clin Endocrinol Metab* 65:407-414, 1987.

64 - Nussbaum SR, Potts JT, Jr.. Immunoassays for parathyroid hormone 1-84 in the diagnosis of hyperparathyroidism. *J Bone Miner Res* 6 (Suppl.2):S43-S50, 1991.

- 65 - Quarles LD, Lobaugh B, Murphy G. Intact parathyroid hormone overestimates the presence and severity of parathyroid-mediated osseous abnormalities in uremia. *J Clin Endocrinol Metab* 75:145-150, 1992.
- 66 - Solal-Cohen M, Sebert JL, Boudailliez B, Annick M, Moriniere P, Gueris J, Bouillon R, Fournier A. Comparison of intact, midregion, and carboxy terminal assays of parathyroid hormone for the diagnosis of bone disease in hemodialyzed patients. *J Clin Endocrinol Metab* 73:516-524, 1991.
- 67 - Hercz G, pei Y, Sherrard DJ, Segre G, Chan W. The spectrum of fibrotic bone disease. *J Am Soc Nephrol* 4:697, 1993 (abstract).
- 68 - Reichel H, Szabo A, UHL J, Persian S, Schmutz A, Schmidt-Gayk H, Ritz E. Intermittent versus continuous administration of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in experimental renal hyperparathyroidism. *Kidney Int* 44:1259-1265, 1993.
- 69 - Angelini D, Carlini A, Mazzotta L, Mai E, Grasse R, Neri M, Fiorini I, Antonelli A. Immunologic disturbances and levels of parathyroid hormone in uremic patients in replacement dialysis therapy. *Clin Nephrol* 42:246-250, 1994.
- 70 - Coburn JW, Sherrard DJ, Ott SM, Didomenico NC, Brickman AS, Singer FR. Use of active vitamin D Sterols in end-stage renal failure, in *Proceedings of the 4th International Congress on Calcitropic Hormones*, edited by Cannigia A, Genova, Medical Systems, S.p.A., 1984, p.27

- 71 - Quarles LD, Davidai GA, Schawb SJ, Bartholomay DW, Lobaugh B. Oral calcitriol and calcium: Efficient therapy for uremic hyperparathyroidism. *Kidney Int* 34:840-844, 1988.
- 72 - Salusky IB, Goodman WG, Horst R, Segre GV, Kim L, Norris KC, Adams JS, Holloway M, Fine RN, Coburn JW. Pharmacokinetics of calcitriol in CAPD/CCPD patients. *Am J Kidney Dis* 16:126-132, 1990.
- 73 - Levine BS, Song MM. Pharmacokinetics and efficacy of pulse oral versus intravenous calcitriol in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 7:488-496, 1996.
- 74 - Gallieni M, Brancaccio D, Padovese P et al. Low-dose intravenous calcitriol treatment of secondary hyperparathyroidism in hemodialysis patients. *Kidney Int* 42:1191-1198, 1992.
- 75 - Dressler R, Laut J, Lynn RI, Ginsberg N. Long-term high dose intravenous calcitriol therapy in end-stage renal disease patients with severe secondary hyperparathyroidism. *Clin Nephron* 43:324-331, 1995.
- 76 - Fisher ER, Harris DCH. Comparison of intermittent oral and intravenous calcitriol in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Clin Nephrol* 40:216-220, 1993.
- 77 - Quarles LD, Yohay DA, Carroll BA, Spritzer CE, Minda SA, Bartholomay D, Lobaugh BA. Prospective trial of pulse oral versus intravenous calcitriol treatment of hyperparathyroidism in ESRD. *Kidney Int* 45:1710-1721, 1994.

78 - Faugere M-C, Friedler RM, Malluche HH. Efficacy and limitations of pulse IV and pulse oral 1,25 vit. D therapy in treatment of hyperparathyroidismo in patients on long term dialysis. J Am Soc Nephrol 4:695, 1993 (abstract).

79 - Salusky IB, Ramirez JA, Belin T, Segre GV, Goodman WG. Pulse calcitriol therapy: A prospective randomized trial. J Am Soc Nephrol 5:855, 1994 (abstract).

80 - Mohini R, Lester C, Szromba C, Rao DS, Narins RG. Problems with the use of intravenous calcitriol in the management of severe secondary hyperparathyroidism in patients on chronic hemodialysis. J Am Soc Nephron 2: 698,1992 (abstract).

81 - Rodriguez M, Felsenfeld AJ, Williams C, Pederson JA, Llach F. The effect of long-term calcitriol administration on parathyroid function in hemodialysis patients. J Am Soc Nephrol 2:1014-1020, 1991.

82 - Malberti F, Scanziani R, Cooradi B, Dozio B, Bonforte G, Imbasciati E, Surian M. High-dose oral calcitriol and zero calcium peritoneal solutions in CAPD patients with refractory secondary hyperparathyroidism. Nephrol Dial transplant 9:1913-1815, 1994.

83 - Sprague SM, Moe SM. Safety and efficacy of long-term treatment of secondary hyperparathyroidism by low-dose intravenous calcitriol. Am J Kidney Dis 19:532-539, 1992.

84 - Coburn JW, Salusky IB. Control of serum phosphorus in uremia. N Engl J Med 320:1140-1142, 1989.

85 - Goodman WG, Ramirez JA, Belin TR, Chon Y, Gales B, Segre GV, Salusky IB. Development of adynamic bone in patients with secondary hyperparathyroidism after intermittent calcitriol therapy. *Kidney Int* 46:1160-1166, 1994.

86 - Gonella M, Calabrese G, Aleo AG, Vagelli G, Deambrogio P. Calcitriol pulse therapy for severe hyperparathyroidism or calcium salts as phosphate binders in renal dialysis patients. *Nephron* 71:350-353, 1995.

87 - Slatopolsky E, Weerts C, Norwood K, Giles K, Fryer P, Finch J, Windus D, Delmez J. Long-term effects of calcium carbonate and 2.5 mEq/liter calcium dialysate on mineral metabolism. *Kidney Int* 36:897-903, 1989.

88 - Fukagawa M, Fukuda N, Yi H, Kurokawa K. Resistance of parathyroid cell to calcitriol as a cause of parathyroid hyperfunction in chronic renal failure (editorial). *Nephron Dial Transplant* 10:316-319, 1995.

89 - Fukuda N, Tanaka H, Tominaga Y, Fukagawa M, Kurokawa K, Seino Y. Decreased 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor density is associated with a more severe form of parathyroid hyperplasia in chronic uremic patients. *J Clin Invest* 92:1436-1443, 1993.

90 - Arnold A, Brown MF, Urena P, Gaz RD, Sarfati E, Drueke TB. Monoclonality of parathyroid tumors in chronic renal failure and in primary parathyroid hyperplasia. *J Clin Invest* 95:2047-2053, 1995.

91 - Finch JL, Brown AJ, Kubodera N, Nishii Y, Slatopolsky E. Differential effects of 1,25-(OH)₂D₃ and 22-oxacalcitriol on phosphate and calcium metabolism. *Kidney Int* 43:561-566, 1993.

92 - Kubrusly M, Gagné E-R, Ureña P et al. Effect of 22-oxacalcitriol on calcium metabolism in rats with severe secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 44: 551-556, 1993.

93 - Morii H, Ogura Y, Koshikawa S, Mimura N, Suzuki M, Kurokawa K, Marumo F, Kawaguchi Y, Maeda K, Nishizawa Y, Inoue S, Fujimi S. Efficacy and safety of oral falecalcitriol in reducing parathyroid hormone in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *J Bone Miner Metab* 16:34-43, 1998.

94 - Slatopolsky E, Finch J, Ritter C, Denda M, Morrissey J, Brown A, DeLuca H. A new analog of calcitriol, 19-nor-1,25-(OH)₂D₂ suppresses parathyroid hormone secretion in uremic rats in the absence of hypercalcemia. *Am J Kidney Dis* 25:852-860, 1995.

95 - Martin KJ, González EA, Gellens M, Hamm LL, Abboud H, Lindberg J. 19-Nor-1- α -25-Dihydroxyvitamin D₂ (Paricalcitol) safely and effectively reduces the levels of intact parathyroid hormone in patients on hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 9:1427-1432, 1998.

96 - Brown EM. The extracellular Ca²⁺ sensing, regulation of parathyroid cell function, and the role of Ca²⁺ and other ions as extracellular (first) messengers. *Physiol Rev* 71:371-411, 1991.

97 - Pearce SHS, Trump D, Wooding C, Besser GM, Chew SL, Grant DB, Heath DA, Hughes IA, Paterson CR, Whyte MP, Thakker RV. Calcium-sensing receptor mutations in familial benign hypercalcemia and neonatal hyperparathyroidism. *J Clin Invest* 96:2683-2692, 1995.

98 - Pollak MR, Brown EM, Chou Y-HW, Hebert SC, Marx SJ, Steinman B, Levi T, Seidman CE, Seidman JG. Mutations in the human Ca^{2+} -sensing receptor gene cause familial hypocalciuric hypercalcemia and neonatal severe-hyperparathyroidism. *Cell* 75:1297-1303,1993.

99 - Pollak MR, Seidman CE, Brown EM. Three inherited disorders of calcium sensing. *Medicine (Balt)* 75:115-123, 1996.

100 - Baron J, Winer KK, Yanovski JA, Cunningham AW, Lauel L, Zimmerman D, Cutler GB, JR. Mutations of the Ca^{2+} -sensing receptor gene cause autosomal dominant and sporadic hypoparathyroidism. *Human Mol Genet* 5:601-606, 1996.

101 - Pearce SHS, Williamson C, Kiforo O, Bai M, Coulthard MG, Davies M, Lewis-Barned N, McCreddie D, Powell H, Kendall-Taylor P, Brown EM, Thakker RV. A familial syndrome of hypocalcemia with hypercalciuria due to mutations in the calcium-sensing receptor. *N Engl J Med* 335:1115-1122, 1996.

102 - Hammerland LG, Garrett JE, Hung BCP, Levinthall C, Nemeth EF. Allosteric activation of the Ca^{2+} receptor expressed in *Xenopus laevis* oocytes by NPS 467 or NPS 568. *Mol Pharmacol* 53:1083-1088, 1998.

- 103 - Brown EM, Pollak M, Hebert SC. The extracellular calcium-sensing receptor: Its role in health and disease. *Annu Rev Med* 49:15-29, 1998.
- 104 - Hebert SC. Extracellular calcium-sensing receptor: Implications for calcium and magnesium handling in the kidney. *Kidney Int* 50:2129-2139, 1996.
- 105 - Brown EM. Physiology and pathophysiology of the extracellular calcium-sensing receptor. *Am J Med* 106:238-253, 1999.
- 106 - Choultz IN, Steinberg SF, Tropper PJ, Fox HE, Segre GV, Bilezikian JP. The influence of hypermagnesemia on serum calcium and parathyroid hormone in human subjects. *N Engl J Med* 310:1221-1225, 1984.
- 107 - Quamme GA. Effect of hypercalcemia on renal tubular handling of calcium and magnesium. *Can J Physiol Pharmacol* 60:1275-1280, 1982.
- 108 - Quamme GA. Control of magnesium transport in the thick ascending limb. *Am J Physiol* 256:F197-F210, 1989.
- 109 - Brown EM, Hebert SC. Calcium-receptor-regulated parathyroid and renal function. *Bone* 20:303-309, 1997.
- 110 - Riccardi D, Hall AE, Chattopadhyay N, Zu JZ, Brown EM, Hebert SC. Localization of extracellular Ca^{2+} /polyvalent cation-sensing protein in rat kidney. *Am J Physiol* 274:F611-F622, 1998.

- 111 - Sands JM, Naruse M, Baum M, Jo I, Hebert SC, Brown EM, Harris HW. Apical extracellular calcium/polyvalent cation-sensing receptor regulates vasopressin-elicited water permeability in rat kidney inner medullary collecting duct. *J Clin Invest* 99:1399-1405,1997.
- 112 - Weisinger JR, Favus MJ, Langman CB, Bushinsky DA. Regulation of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ by calcium in the parathyroidectomized, parathyroid hormone-replete rat. *J Bone Miner Res* 4:929-935, 1989.
- 113 - Chattopadhyay N, Cheing I, Rogers K, Riccardi D, Hall A, Diaz R, Herbert SC, Soybel DI, Brown EM. Identification and localization of extracellular Ca²⁺-sensing receptor in rat intestine. *Am J Physiol* 274:G122-G130, 1998.
- 114 - Rogers KV, Dunn CK, Hebert SC, Brown EM. Localization of calcium receptor mRNA in the adult rat central nervous system by in situ hybridization. *Brain Res* 744:47-56, 1997.
- 115 - House MG, Kohlmeier L, Chattopadhyay N, Kifor O, Yamaguchi T, Leboff MS, Gloiwacki J, Brown EA. Expression of an extracellular calcium-sensing receptor in human and mouse bone marrow cells. *J Bone Miner Res* 12:1959-1970, 1997.
- 116 - Seuwen K, Boddeke HGWM, Migliaccio S, Perez M, Taranta A, Teti A. A novel calcium sensor stimulation inositol phosphate formation and (Ca²⁺) signaling expressed by GCT23 osteoclast-like cells. *proc Assoc Amer Physicians* 111:70-81, 1999.

117 - Quarles LD. Cation sensing receptors ins bone: A novel paradigm for regulating bone remodeling ? J Bone Miner Res 12:1971-1974, 1997.

118 - Pollak MR, Chou Y-HW, Marx SJ, Steinmann B, Cole DEC, Brandi ML, Papapoulos SE, Menko FH, Hendy GN, Brown EM, Seidman CE, Seidman JG. Familial hypocalciuric hypercalcemia and neonatal severe hyperparathyroidism . Effect of mutant gene dosage on phenotype. J Clin Invest 93:1108-1112, 1994.

119 - Marx SJ, Attie MF, Stock JL, Spiegel AM, Levine MA. Maximal urine-concentrating ability: Familial hypocalciuric hypercalcemia versus typical primary hyperparathyroidism. J Clin Endocrinol Metab 52:736-740, 1981.

120 - Heath DA. Familial hypocalciuric hypercalcemia, in The Parathyroids, edited by Bilezikian JP, Levine MA, Marcus R, New York, Raven Press, Ltd., 1994, p.699-710.

121 - Ho C, Connor DA, Pollak MR, Ladd DJ, Kifor O, Warren HB, Brown EM, Seidman JG, Seidman CE. A mouse model of human familial hypocalciuric hypercalcemia and neonatal severe hyperparathyroidism. Nat Genet 11:389-394, 1995.

122 - Bai M, Pearce SHS, Kifor O, Trivedi S, Stauffer UG, Thakker RV, Brown EM, Steinmann B. In vivo and vitro characterization of neonatal hyperparathyroidism resulting from a de novo, heterozygous mutation in the Ca^{2+} -sensing receptor gene: Normal maternal calcium homeostasis as a cause of secondary hyperparathyroidism in familial benign hypocalciuric hypercalcemia. J Clin Invest 99:88-96, 1997.

123 - Pollak MR, Brown EM, Estep HL, McLaine PN, Kifor O, Park J, Hebert SC, Seidman CE, Seidman JG. Autosomal dominant hypocalcaemia caused by a Ca^{2+} -sensing receptor gene mutation. *Nat Genet* 8:303-307, 1994.

124 - Heath D. Familial hypocalcemia - Not hypoparathyroidism. *N Engl J Med* 335:1144-1145, 1996.

125 - Rogers KV, Dunn CK, Conklin RL, Hadfield S, Petty BA, Brown EA, Hebert SC, Nemeth EF, Fox J. Calcium receptor messenger ribonucleic acid levels in the parathyroid glands and kidney of vitamin D-deficient rats are not regulated by plasma calcium or 1,25-dihydroxyvitamin D_3 . *Endocrinol* 136:499-504, 1995.

126 - Brown AJ, Zhong M, Finch J, Ritter C, McCracken R, Morrissey J, Slatoposky E. Rat calcium sensing receptor is regulated by vitamin D but not by calcium. *Am J Physiol* 270:F454-F460, 1996.

127 - Autry CP, Kifor O, Brown EM, Fuller FH, Rogers KV, Halloran BP. Ca^{2+} receptor mRNA and protein increase in the rat parathyroid gland with advancing age. *J Endocrinol* 153:437-444, 1997.

128 - Mathias RS, Nguyen HT, Zhang MYH, Portale AA. Reduced expression of the renal calcium-sensing receptor in rats with experimental chronic renal insufficiency. *J Am Soc Nephrol* 9:2067-2074, 1998.

129 - Nemeth EF, Steffey ME, Hammerland LG, Hung BC, Van Wagenen BC, Delmar EG, Balandrin MF. Calcimimetics with potent and selective activity on the parathyroid calcium receptor. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 95:4040-4045, 1998.

130 - Nemeth EF, Bennett SA. Tricking the parathyroid gland with novel calcimimetic agents. *Nephrol Dial Transplant* 13:1923-1925, 1999.

131 - Wada M, Furuya Y, Sakiyama J-I. The Calcimimetic compound NPS R-568 suppresses parathyroid cell proliferation in rats with renal insufficiency. *J Clin Invest* 100: 2977-2983, 1997.

132 - Wada M, Ishii H, Furuya Y, Fox J, Nemeth EF, Nagano N. NPS R-568 halts or reverses osteitis fibrosa in uremic rats. *Kidney Int* 53: 448-453, 1998.

133 - Silverberg SI, Bone H, Marriot T, Locker FG, Thys-Jacobs S, Dziem G, Kaatz S, Sanguinetti EL, Bilezikian JP: Short-term inhibition of parathyroid hormone secretion by a calcium receptor agonist in primary hyperparathyroidism. *N Eng J Med* 337:1506-1510, 1997.

134 - Antonsen JE, Sherrard DJ, Andress DL. A calcimimetic agent acutely suppresses parathyroid hormone levels in patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 53:510-511, 1998.

135 - Akizawa T, Suzuki M, Tominaga Y, Saito A, Uchida E, Kawaguchi Y, Ogata E, Kurokawa K. Acute effect of calcimimetic agent on hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol* 9:516A, 1998 (abstract).

136 – Goodman WG, Frazao JM, Goodkin DA, Turner S, Liu W, Coburn JW. The calcimimetic, R-568, lowers plasma parathyroid hormone levels in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol* (in press): 1999 (abstract)

137 - Collins MT, Skarulis MC, Bilezikian JP, Silverberg SJ, Spiegel AM, Marks SJ. Treatment of hypercalcemia secondary to parathyroid carcinoma with a novel calcimimetic agent. *J Clin Endocrinol Metab* 83:1083-1088, 1998.

138 - DeLuca HF. Vitamin D – metabolism and function. In: Gross R, Grumbach MM, Labhart A et al. Eds. *Monographs on Endocrinology*, Vol. 13. New York: Springer-Verlag, Heidelberg, 1979: 1-78.

139 - Hunt RD, Garcia FG, Hegsted DM. Hypervitaminosis D in the new world monkeys. *Am J Clin Nutr* 22:358-366, 1969.

140 - Sjoden G, Lindgren JU, DeLuca HF. Antirachitic activity of 1 α - hydroxyergocalciferol and 1 α - hydroxycholecalciferol in rats. *J Nutrition* 114: 2043-2046, 1984.

141 - Sjoden G, Smith C, Lindgren U, DeLuca HF. 1 α - Hydroxyvitamin D₂ is less toxic than 1 α - Hydroxyvitamin D₃ in the rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 178: 432-436, 1985.

142 - Sato F, Ouchi Y, Okamoto Y, Kaneti M, Nakamura T, Ikekawa N, Orimo H. Effects of vitamin D₂ analogs on calcium metabolism in vitamin D-deficient rats and in MC3T3 osteoblastic cells. *Res Exp Med* 191:235-242, 1991.

143 - Gallagher JC, Bishop CW, Knutson JC, Mazess RB, DeLuca HF. Effects Of increasing doses of 1α -hydroxyvitamin D₂ on calcium homeostasis in postmenopausal osteopenic women. *J Bone Miner Res* 1994, 9:607-614.

144 - Lindholm TS, Sevastikoglou JA, Lindgren U. Treatment of patients with Senile, postmenopausal and corticosteroid-induced osteoporosis with 1α -hydroxyvitamin D₃ and calcium: short and long-term effects. *Clin Endocrinol* 7:183S-189S, 1977.

145 - Lund B, Andersen RB, Friss T et al. Effect of 1α -hydroxyvitamin D₃ and 1,25-dihydroxyvitamin D₂ on intestine and bone in glucocorticoid-treated patients. *Clin Endocrinol* 7:177S-181S, 1977.

147 - Tan AJ, Levine BS, Mazess RB et al. Effective suppression of parathyroid hormone by 1α -hydroxyvitamin D₂ in hemodialysis patients with moderate to severe secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 51:317-323, 1997.

148 - Makita T., Utotani Y, Iwazawa Y, Kawashima H, Hashimoto Y and Tsubura Y: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 36, 323, 1976.

149 - Litvak RG, Moldawer MP, Forbes AP, Henneman PH: *J. Clin Endocr Metab*, 18, 246, 1958.

150 - Bonjour JP, Preston C, Fleisch H: *J. Clin Invest*, 60, 1419, 1977.

151 - Costanzo LS, Sheeche PR and Weiner IM: *Am. J. Physiol.* 266, 1490, 1974.

152 - Boyce RW and Weisbrode SE: Lab. Invest. 48, 683, 1983.

153 - Hass GM, Trueheart RE, Taylor CB and Stumpe M: Am. J. Pathol, 34, 395, 1958.

154 - Lamberg-Allardt C: Calcif. Tissue Int. (Suppl) 49, S46, 1991.

155 - Frazão JM, Levine BS, Tan AU, Jr., et al. Efficacy and safety of intermittent oral 1α (OH)-vitamin D_2 in suppressing 2° hyperparathyroidism in hemodialysis patients. Dial Transplant 26:583-595, 1997.

156 - Frazão JM, Chesney RW, Coburn JW, The $1\alpha D_2$ Study Group. Intermittent oral 1α (OH)-vitamin D_2 is effective and safe for the suppression of 2° hyperparathyroidism in hemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant 13(Suppl 3): 68-72, 1998.

157 - Frazão JM, Coburn JW, Chesney RW, The $1\alpha D_2$ Study Group. Use of one-valpha-hydroxyvitamin D_2 ($1\alpha D_2$) in 121 hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism: a phase 3 trial (abstract). J Am Soc Nephrol 12:1781, 1997.

158 - Hollis BW. Assay of circulating 1,25-dihydroxyvitamin D involving a novel single-cartridge extraction and purification procedure. Clin Chem 32:2060-2063, 1986.

159 - Horst RL, Koszewski NJ, Reinhardt TA. 1-Alpha-hydroxylation of 24-hydroxyvitamin D_2 represents a minor physiological pathway for the activation of vitamin D_2 in mammals. Biochemistry 29:578-582, 1990.

160 - Klaus G, Mehls O, Hinderer J, Ritz E. Is intermittent oral calcitriol safe and effective in renal secondary hyperparathyroidism ? *Lancet* 337:800-801, 1991.

161 - Szabo A, Merke J, Beier E, Mall G, Ritz E. 1,25(OH)₂ vitamin D₃ inhibits parathyroid cell proliferation in experimental uremia. *Kidney Int* 35:1049-1056, 1989.

162 - Takahashi F, Finch JL, Denda M, Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. A new analog of 1,25(OH)₂D₃, 19-nor-1,25(OH)₂D₂, suppresses serum PTH and parathyroid gland growth in uremic rats without elevation of intestinal vitamin D receptor content. *Am J Kidney Dis* 30:105-112, 1997.

163 - Coburn JW. Use of oral and parenteral calcitriol in the treatment of renal osteodystrophy. *Kidney Int* 38 (Suppl.29):S54-S61, 1990.

164 - Price PA, Baukol SA. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ increases synthesis of the vitamin K-dependent bone protein by osteo-sarcoma cells. *J Biol Chem* 225: 11660-11663, 1980.

165 - Mizunashi K, Furukawa Y, Miura R, Yumita S, Sohn HE, Yoshinaga K. Effects of vitamin D₃ and parathyroid hormone on the serum osteocalcin in idiopathic hypoparathyroidism and pseudohypoparathyroidism. *J Clin Invest* 82: 861-865, 1988.

166 - Zerwekh JE, Sakhae K, Pak CYC. Short-term 1,25-dihydroxyvitamin D₃ administration raises serum osteocalcin in patients with postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 60: 615-617, 1985.

167 - Oettinger Cw, Oliver JC, Macon EJ. The effects of calcium carbonate as the sole phosphate binder in combination with low calcium dialysate and calcitriol therapy in chronic dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 3:995-1001, 1992.

168 - Ljunghall S, Althoff P, Fellstrom B et al. Effects on serum parathyroid hormone of intravenous treatment with alphacalcidol in patients on chronic hemodialysis. *Nephron* 55:380-385, 1990.

169 - Moriniere P, Esper NE, Viron B et al. Improvement of severe secondary hyperparathyroidism in dialysis patients by intravenous $1\alpha(\text{OH})$ vitamin D_3 oral CaCO_3 and low dialysate calcium. *Kidney Int* 43 (Suppl. 41):S121-S124, 1993.

170 - Shiraki M, Orimo H, Ita H, Akiguchi I, Nakao J, Takahashi R, Ishizuka S. Long-term treatment of postmenopausal osteoporosis with active vitamin D, 1-alpha-hydroxycholecalciferol ($1\alpha\text{-OHD}_3$), and 1,24 dihydroxycholecalciferol ($1,24(\text{OH})_2\text{D}_3$). *Endocrinol Jpn* 32:305-315, 1985.

171 - Orimo H, Shiraki M, Hayashi T, Nakamura T. Reduced occurrence of vertebral crush fractures in senile osteoporosis treated with $1\alpha(\text{OH})$ -vitamin D_3 . *Bone Miner* 3:47-52, 1987.

172 - Brown AJ. Vitamin D analogues. *Am J Kidney Dis* 32(Suppl.2):S25-S39, 1998.

173 - Mawer EB, Jones G, Davies N, et al. Unique 24-hydroxylated metabolites represent a significant pathway of metabolism of vitamin D_2 in humans: 24-hydroxyvitamin D_2 and 1,24-dihydroxyvitamin D_2 detectable in human serum. *J Clin Endocrinol Metab* 83:2156-2166, 1998

**Table II-6: Various dosage levels of one-alpha D2,
C was the starting dose.**

Dosage Level	Regimen: ug post-HD	Weekly Dose (ug)
A	20	60
B	15	45
C	10	30
D	7.5	22.5
E	5	15
F	2.5	7.5

Table II-7: Demographics of the patients who completed 24 weeks of treatment.

Mean±SE (Range)	California	Tennessee Mississippi
	38 Patients	61 Patients
Age (years)	54 ± 14.0 (22-75)	52 ± 13.5 (27-75)
Dialysis Duration (mos)	52 ± 51.0 (4-180)	53 ± 45.8 (4-231)
Sex (F/M)	20/18	35/26

Table II-8: Biochemical parameters at Baseline (B), after open-label treatment with 1-alpha₂D (Week 16) and at the end of the subsequent blinded conversion to either placebo or continued 1-alpha₂D (week 24).

	iPTH (pg/ml)			Ca (mg/dl)			PO4 (mg/dl)		
	B	WK 16	WK 24	B	WK 16	WK 24	B	WK 16	WK 24
1alpha	916 ± 84 (48)	364 ± 52 (47)	381 ± 50# (48)	8.94 ± 0.10 (48)	9.72 ± 0.13 (48)	9.66 ± 0.14* (48)	4.78 ± 0.11 (48)	5.48 ± 0.15 (48)	5.61 ± 0.19 (48)
PCBO	881 ± 65 (51)	398 ± 48 (51)	786 ± 75 (51)	9.09 ± 0.11 (51)	9.80 ± 0.13 (51)	9.23 ± 0.13 (51)	4.83 ± 0.16 (51)	5.78 ± 0.21 (51)	5.31 ± 0.21 (51)
All	897 ± 52 (99)	382 ± 35 (98)		9.02 ± 0.07 (99)	9.76 ± 0.09 (99)		4.80 ± 0.10* (99)	5.63 ± 0.13 (99)	

Data are mean ± SE. Numbers in parenthesis indicate number of subjects at each time. Different from placebo, * p < 0.05, # p < 0.001

Table II-9: Number of patients who exhibited various degrees of iPTH suppression during treatment with 1-alpha D₂.

	Number	Percentage
PTH fell > 50%[#]	81/99	81.8
PTH fell > 70%[#]	59/99	59.6
PTH reached target[#]	79/99	79.8
PTH fell below target	59/99	59.6

Target PTH: 150 - 300 pg/ml

Two or more iPTH measurements were designated as qualifying a patient for showing the change

Table II-10: Dose of phosphate binders, expressed as the quantity of elemental calcium in mg/day, at Baseline, and weeks 16 and 24.

BASELINE	WEEK 16	WEEK 24	
		Placebo	1-alpha D ₂
1908 ± 108	2153 ± 123	2207 ± 238	1984 ± 187

mean ± SE

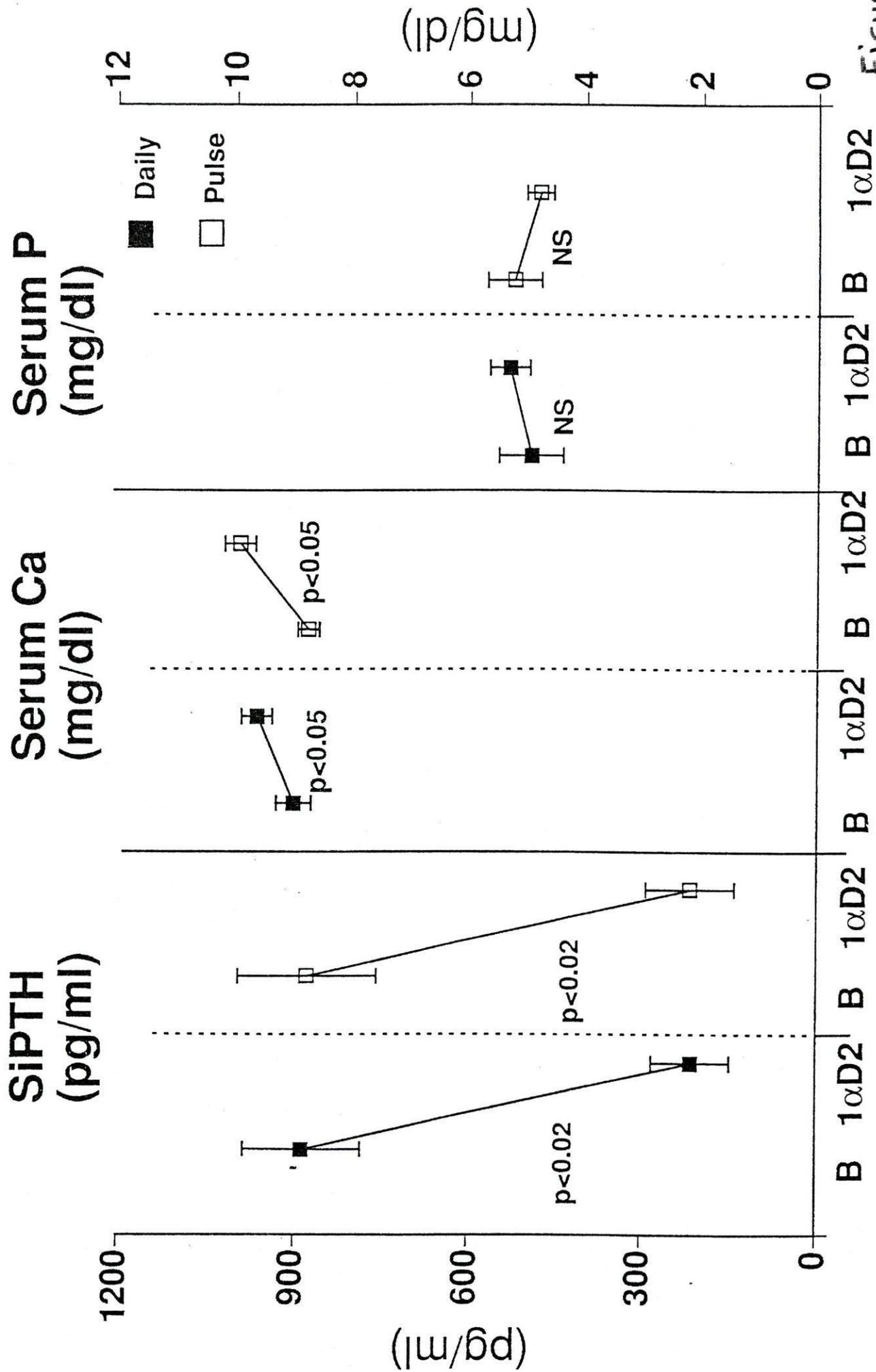
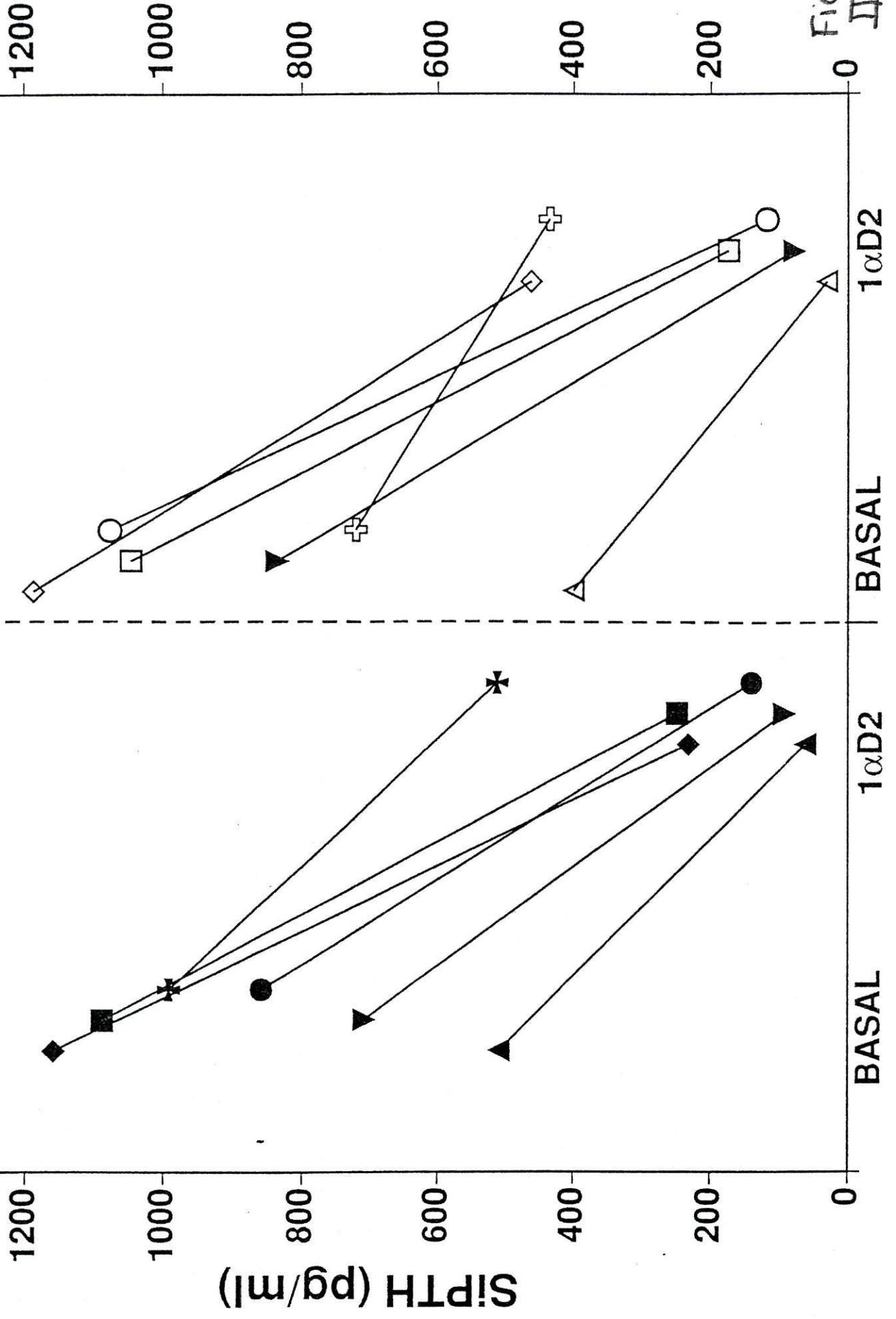
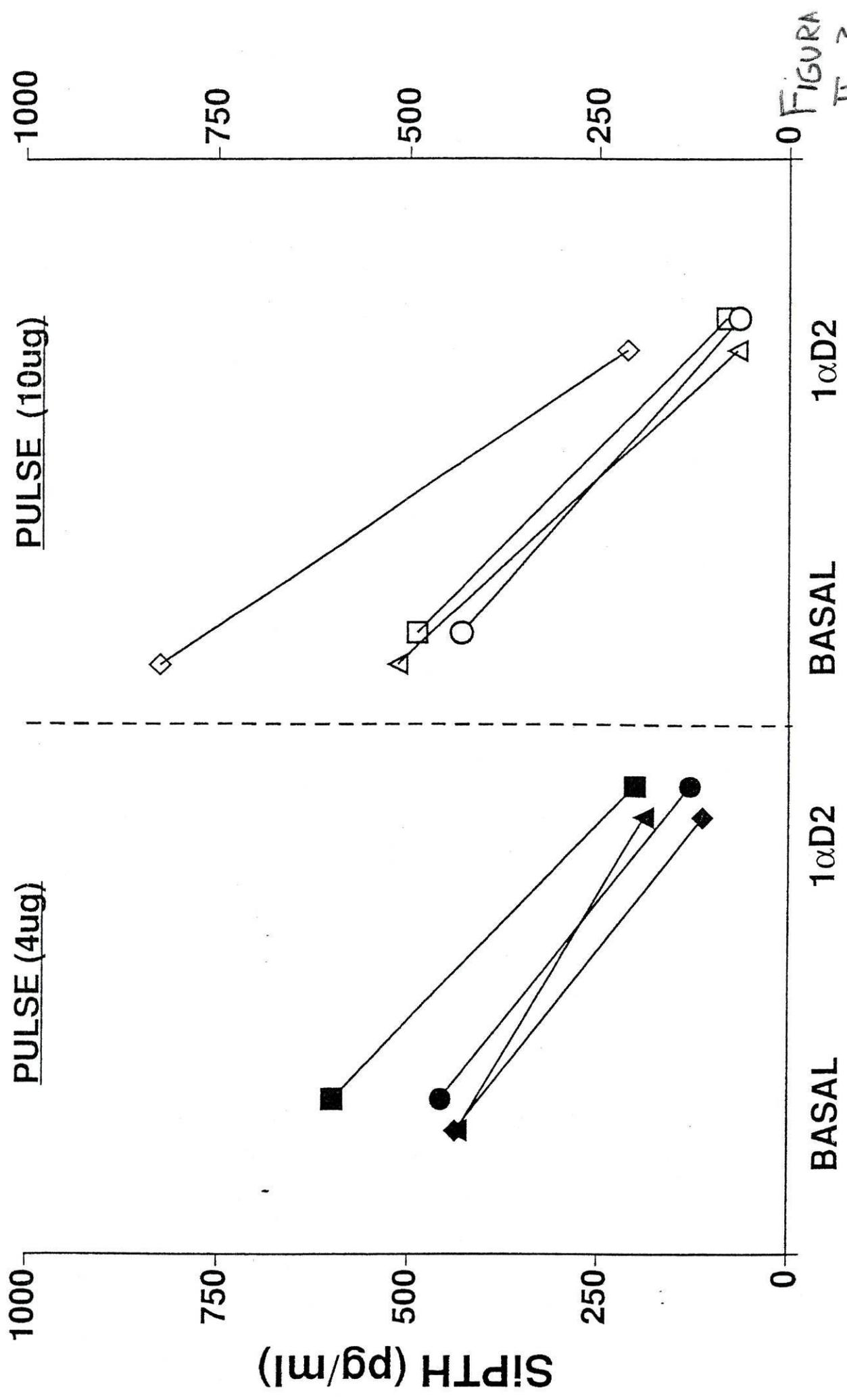


FIGURA II - 1

FIGURA II-2





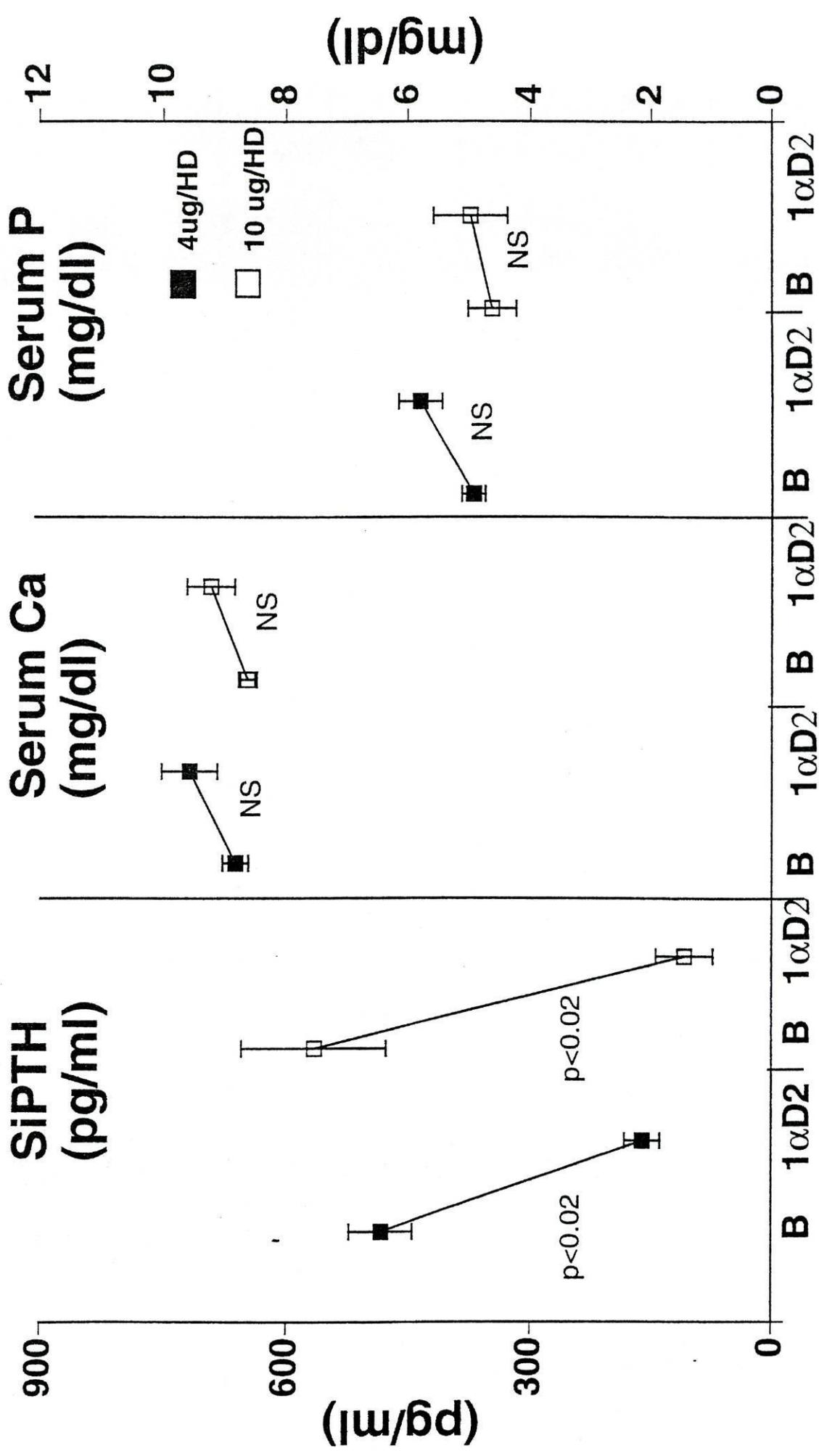


FIGURA II-4

iPTH (% baseline)

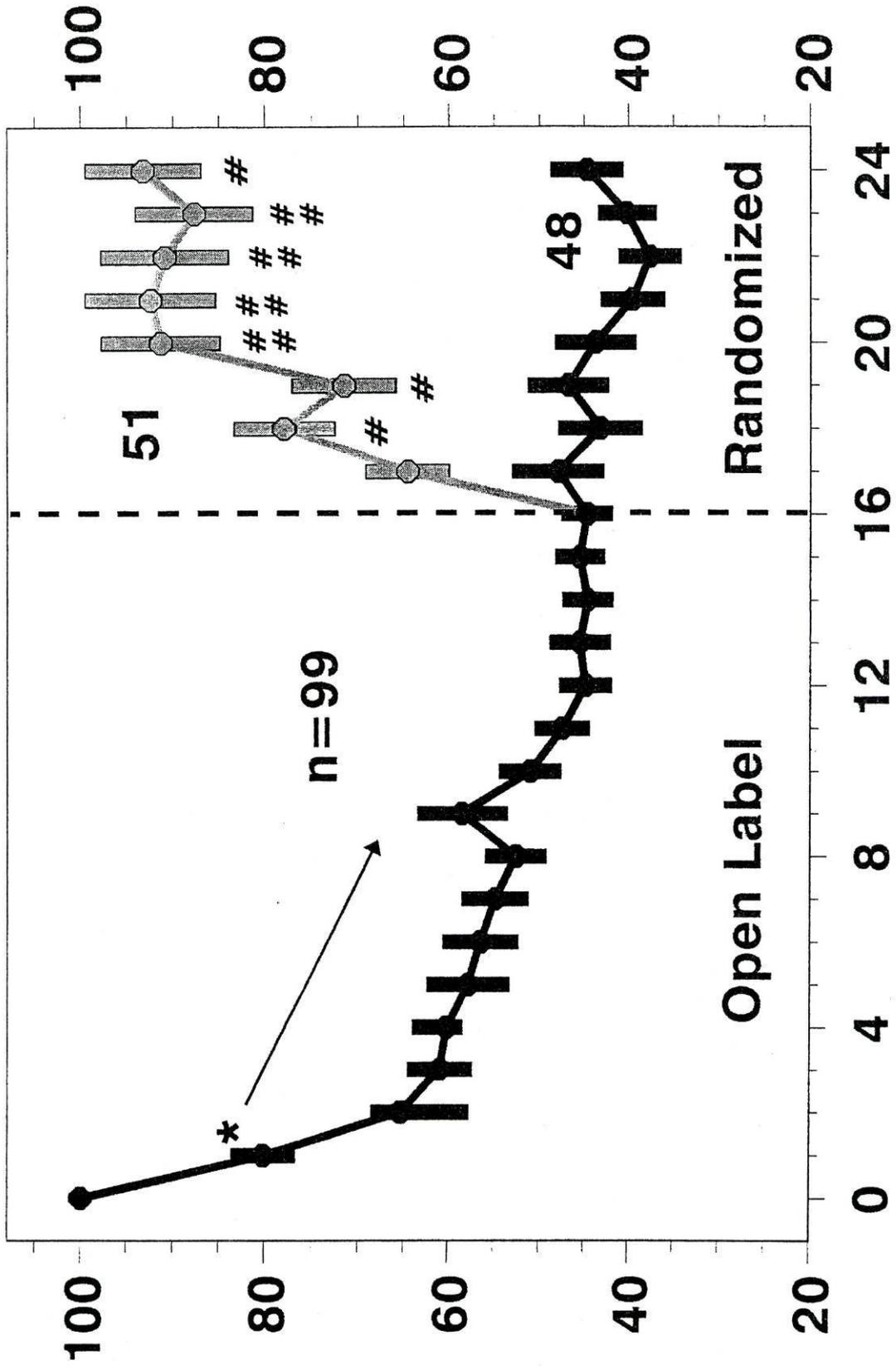
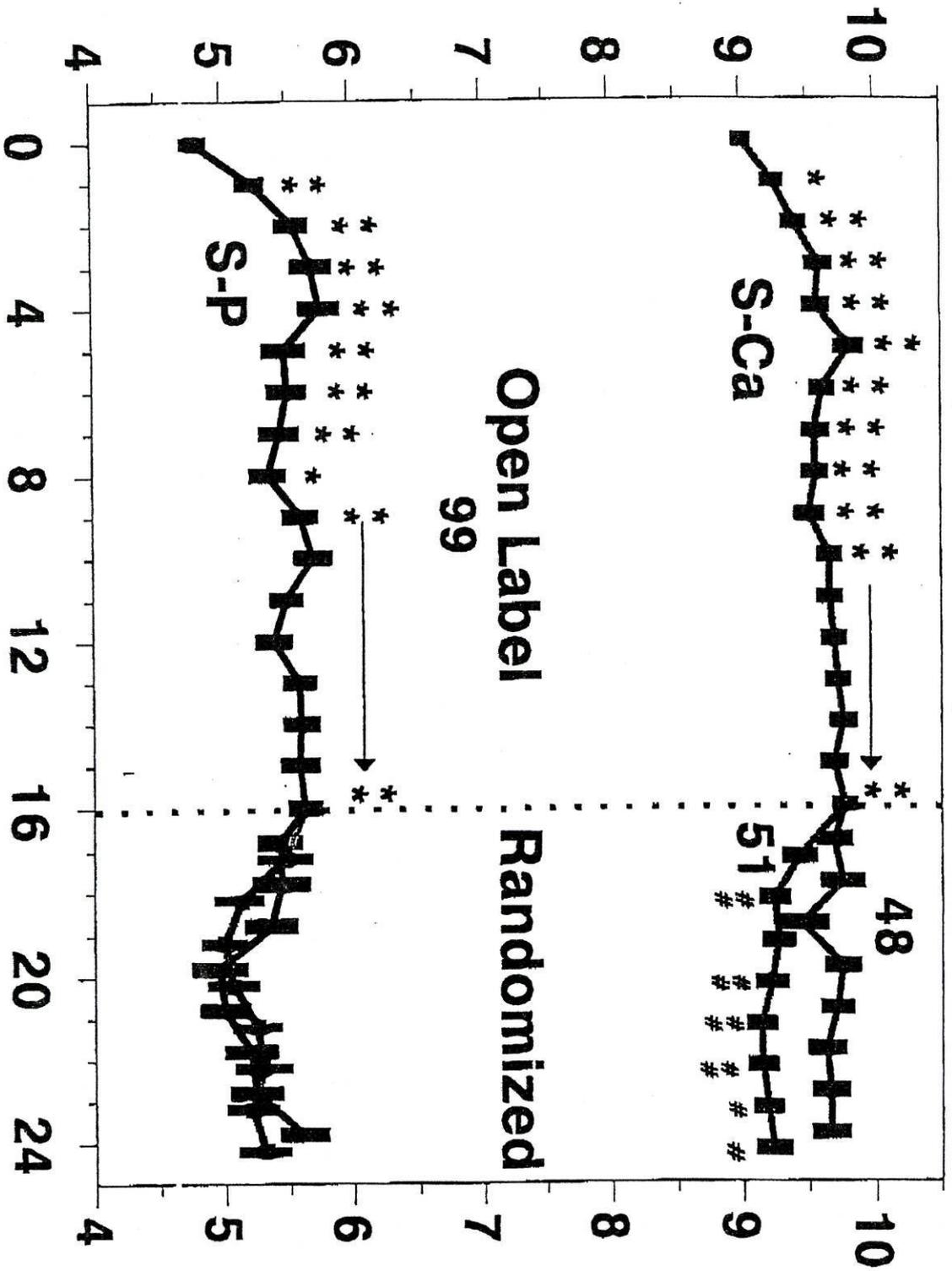


FIGURA II - 5

(mg/dl)



Time (weeks)

FIGURE II-6

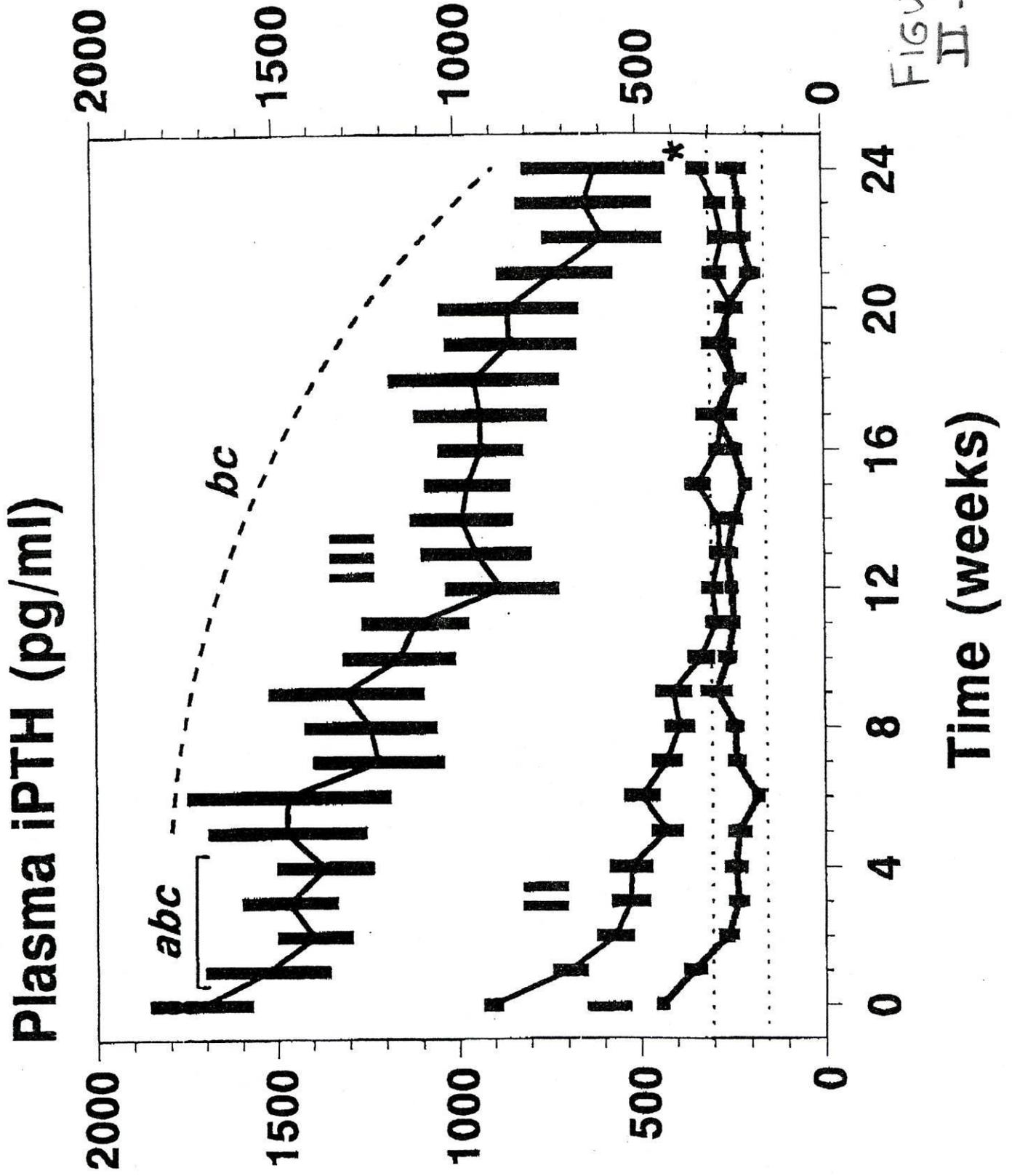


FIGURA
II.7

Episodes/100 Rx-wks

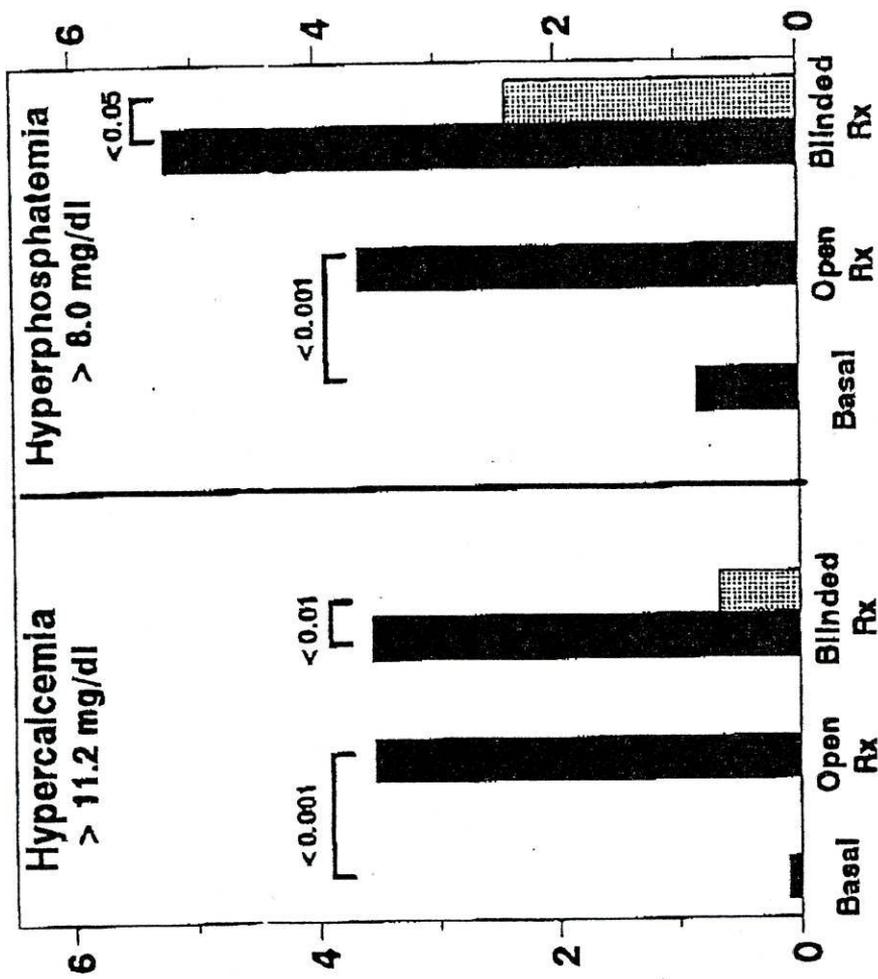
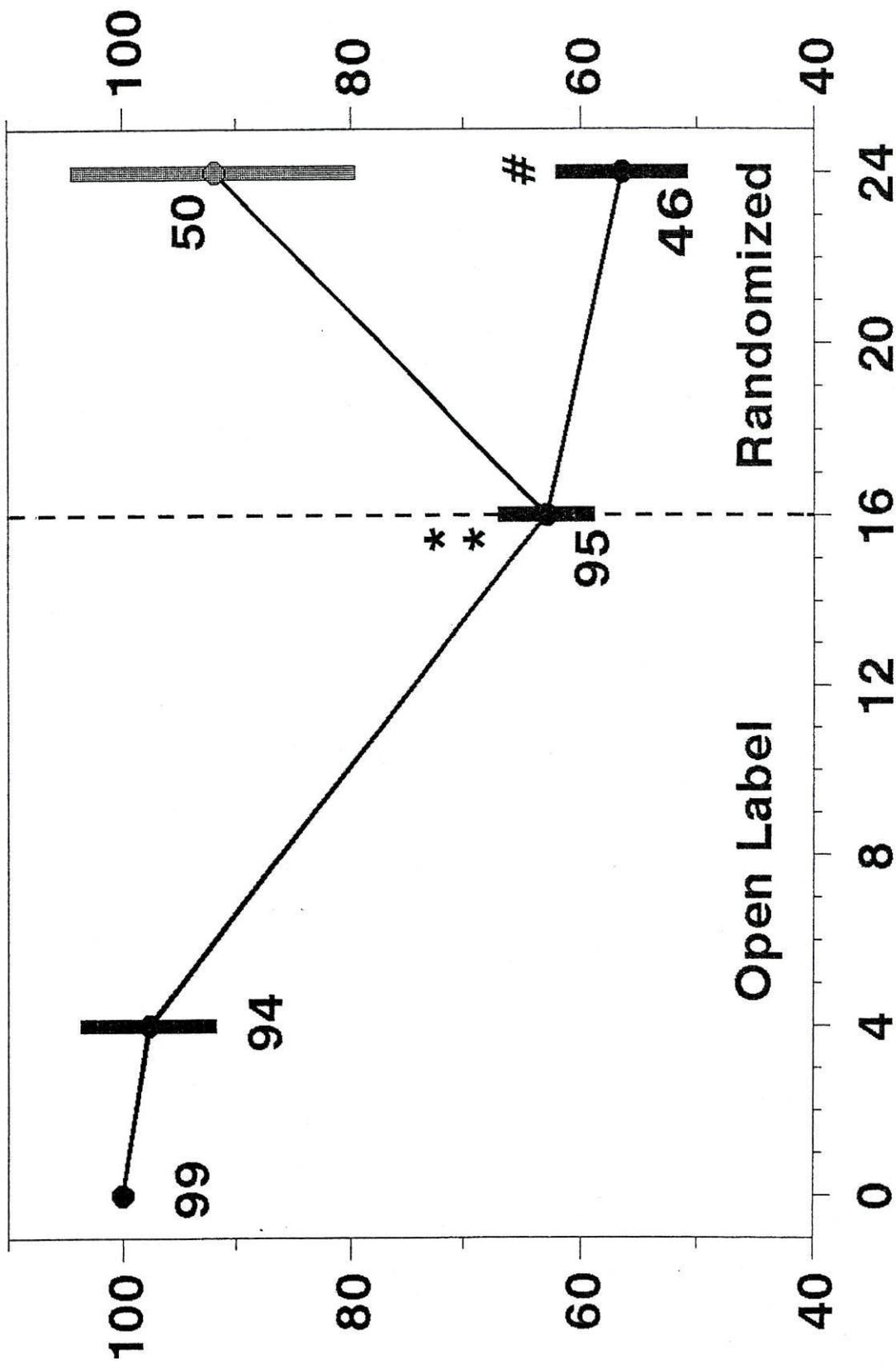


FIGURA II-8

Bone Alk. Phos. (% baseline)



Time (weeks)

FIGURA II.9

ug/week

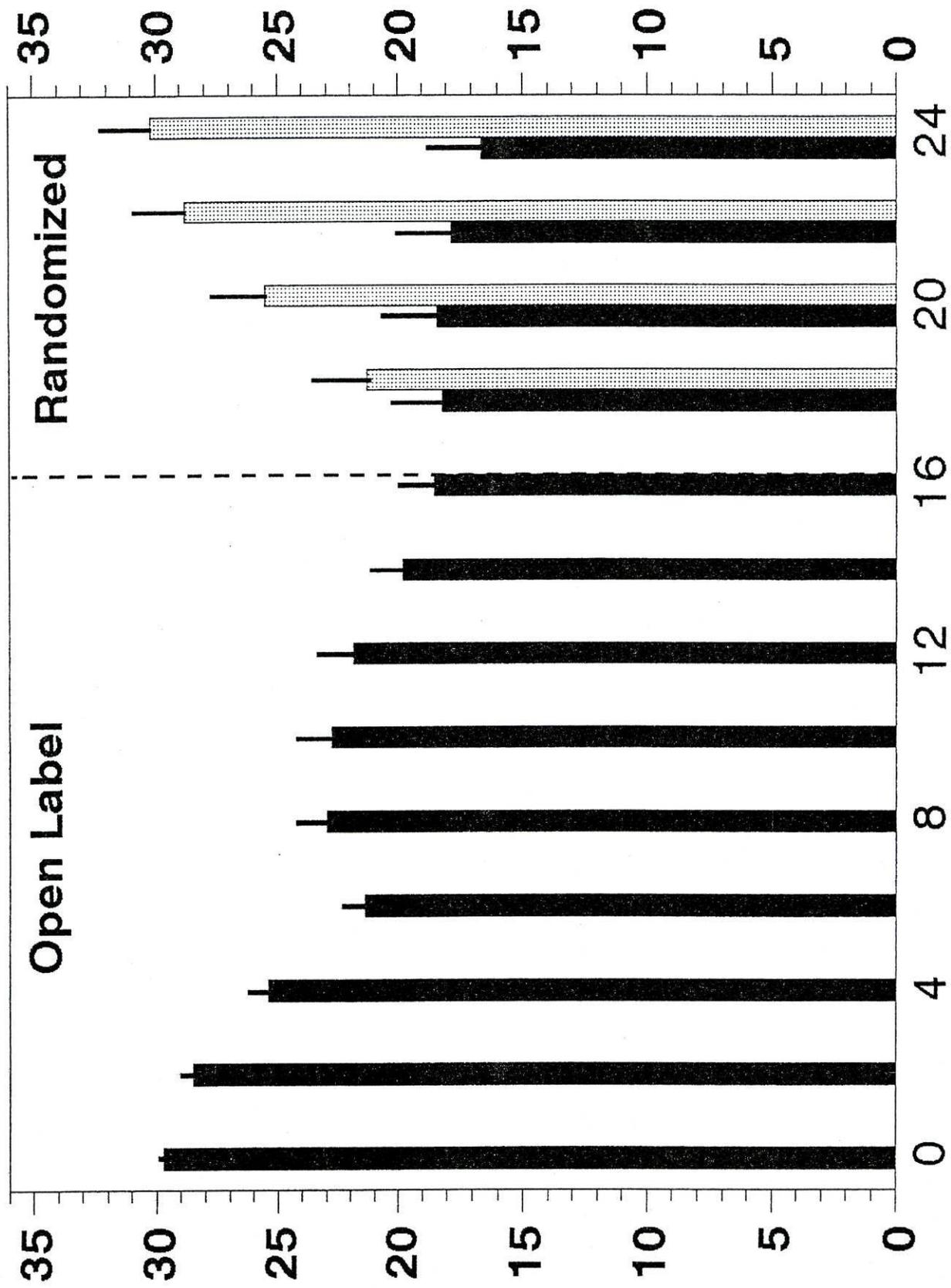
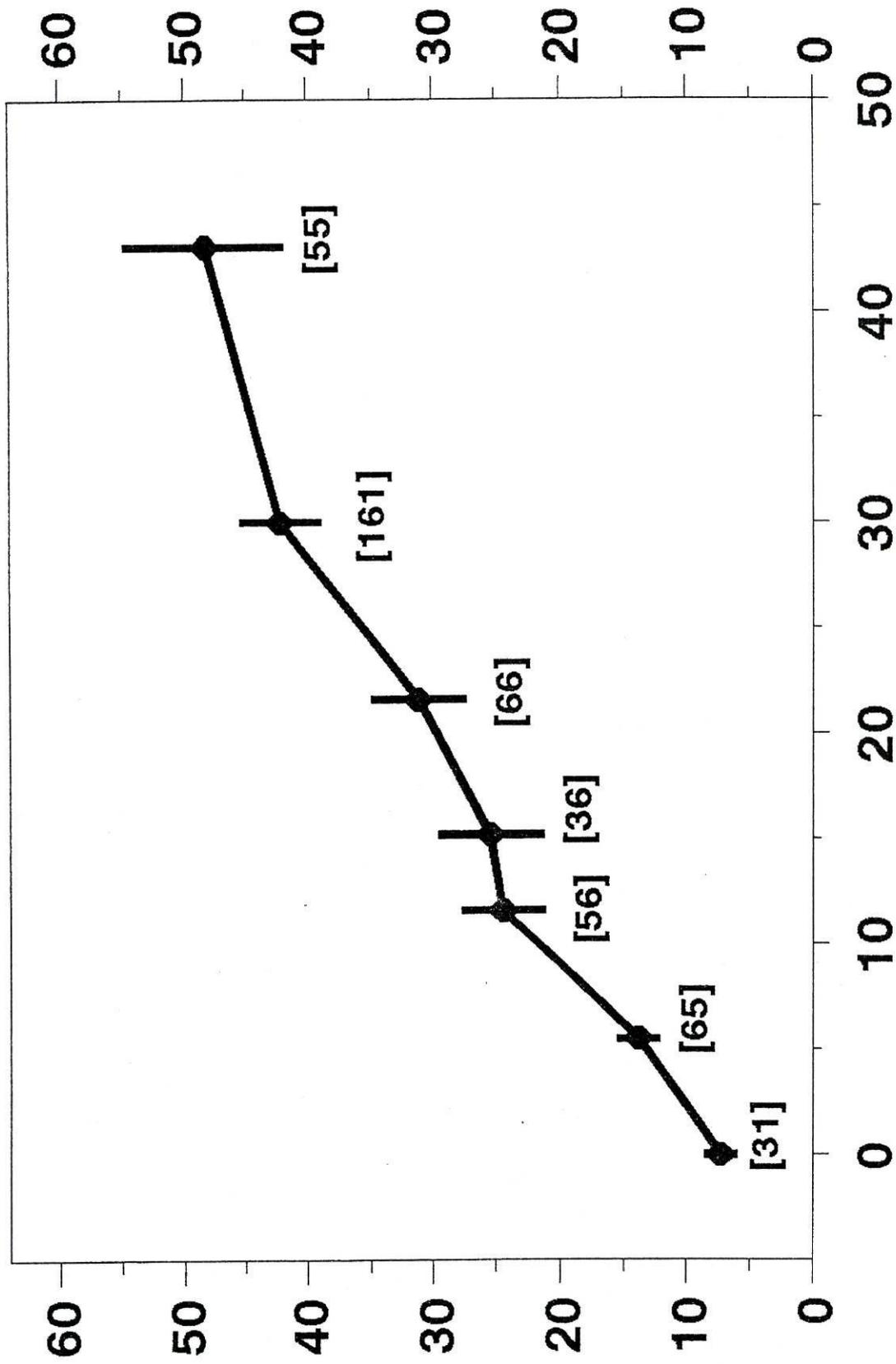


FIGURA
II-10

Plasma 1,25(OH)₂D₂ (pg/ml)



Dose of 1-Alpha D₂ (ug/week)

1-alpha D₂ Dose (ug/week)

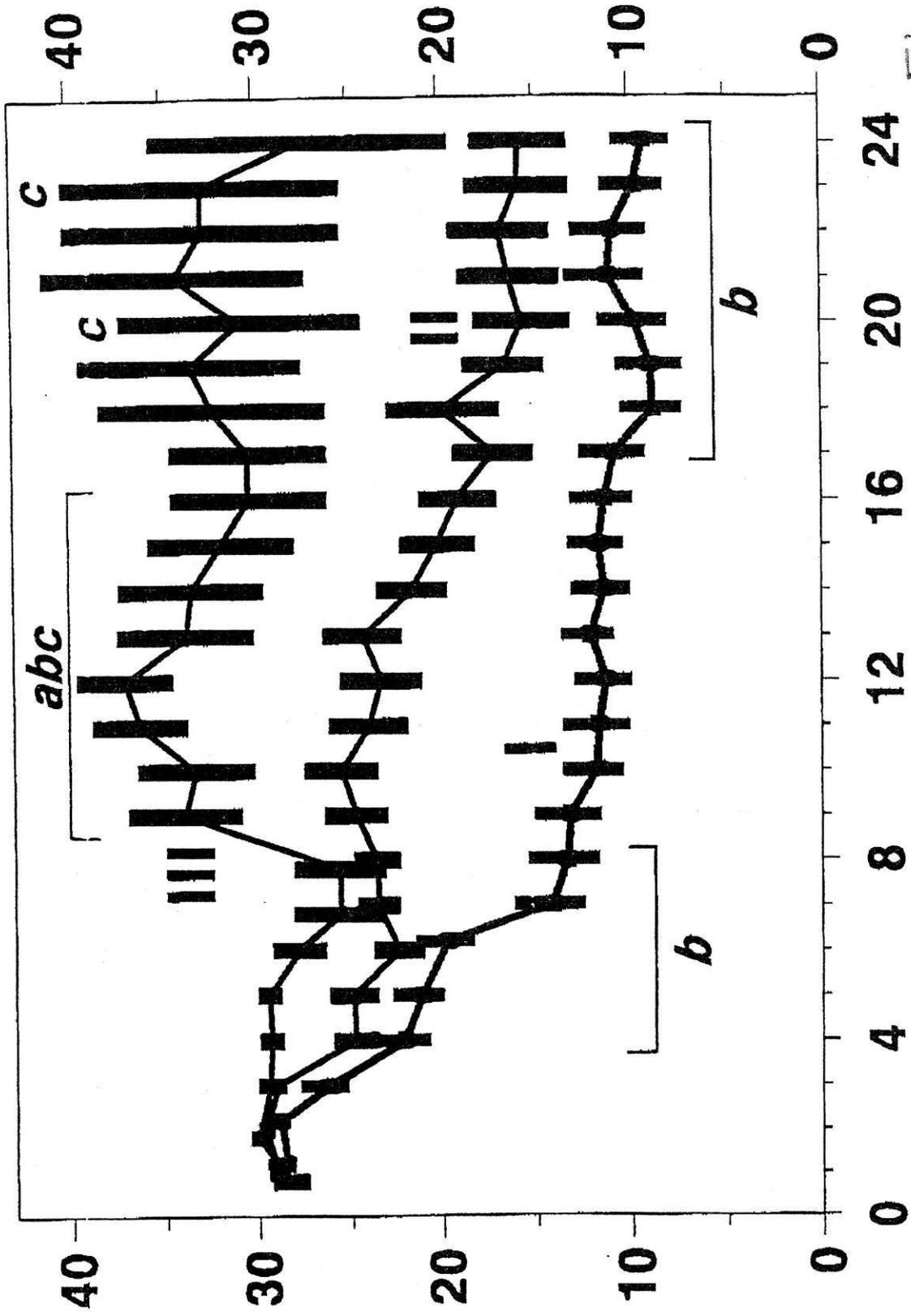


FIGURA
II-12

Time (weeks)