



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

**XXXIV Ciclo Dottorato di Ricerca in Tecnologie Innovative
dello scheletro, della cute e del distretto oro cranio facciale**

Tesi di Dottorato

Titolo

**Complicanze muscolari in donne in postmenopausa affette
da iperparatiroidismo primitivo: principali meccanismi
patogenetici**

Relatore: Chiarissimo Prof. Salvatore Minisola

Correlatore: Dott.ssa Cristiana Cipriani

Coordinatore: Prof D. Ribuffo

Candidato: Dott.ssa Federica Biamonte

Matricola: 1143415

Indice

CAPITOLO 1 - Iperparatiroidismo primario

Introduzione.....	pag. 4
Cenni di fisiologia del calcio e del paratormone.....	pag. 6

CAPITOLO 2 - Caratteristiche cliniche

Scheletro.....	pag. 14
Rischio di frattura.....	pag. 16
Manifestazioni d'organo.....	pag. 17

CAPITOLO 3

Deficit di vitamina D.....pag. 23

CAPITOLO 4

Aspetti biochimici.....pag. 25

CAPITOLO 5

Diagnosi.....pag. 27

Indagini strumentali.....pag. 30

CAPITOLO 6

Indicazioni chirurgiche – Linee guida.....pag. 32

CAPITOLO 7

Background.....pag. 34

Obiettivi dello studio.....pag. 39

Disegno dello studio.....pag. 39

CAPITOLO 8

Materiali e metodi.....pag. 42

CAPITOLO 9

Analisi statistica.....pag. 48

Risultati.....pag. 53

CAPITOLO 10

Discussione.....pag. 61

Conclusioni.....pag. 72

BIBLIOGRAFIA.....pag. 73

CAPITOLO 1

Introduzione

Negli ultimi tre decenni, le nostre acquisizioni riguardo all'Iperparatiroidismo Primario (IPP) si sono notevolmente modificate, in termini di diagnosi, *fenotipi clinici* e management terapeutico. Esso è divenuto un disordine endocrino di comune riscontro, in gran parte, grazie al diffuso uso di *auto-analizzatori multichannel*, introdotti negli anni '70. Infatti, è proprio in virtù dell'introduzione dei profili biochimici *multichannel* che, in quegli anni, si rilevò un aumento di 4 -5 volte nell'incidenza della malattia [1].

L'importanza di quest'osservazione deriva dalle proprietà dell'ormone paratiroideo (PTH), in quanto principale regolatore dell'omeostasi del calcio e del fosforo. L'Iperparatiroidismo Primario è il risultato di un'inappropriata ipersecrezione di PTH da parte di una o più ghiandole paratiroidee e rappresenta la causa più frequente di ipercalcemia, spesso diagnosticato in una **fase asintomatica** (ca. 80%). Si stima, infatti, un'incidenza di 20-30 casi/100.000 abitanti ed una prevalenza dello 0.5-1% nella popolazione adulta e di oltre il 2% tra i 50 e i 60 anni, con un rapporto femmine/maschi di 3 a 1 [1].

La **forma sporadica** è quella maggiormente rappresentata, circa il 95% dei casi e a tutt'oggi, per essa, non sono stati individuati fattori scatenanti certi, anche se la progressa irradiazione del capo e del collo sembra conferire una predisposizione allo sviluppo della malattia.

Le forme eredo-familiari di IPP, nel loro insieme, sono relativamente rare (<5%) ed in esse, la malattia è, per lo più, plurighiandolare.

Esse comprendono la MEN1 e MEN2A (Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 e Type 2A); HPT-Jaw Tumor Syndrome, in cui l'IPP è associato a tumori ossificanti della mandibola, cisti e neoplasie renali; l'IPP familiare isolato (FIH) e neonatale (NSHPT), varietà rara e molto severa di iperparatiroidismo, dovuta alla mutazione omozigote del gene codificante per il *Calcium-Sensing Receptor* (CaSR) [2].

Il riconoscimento di queste forme sindromiche, che richiedono differenti percorsi terapeutici rispetto all'IPP, è possibile grazie a test genetici, attualmente in commercio, per il gene della *Menina* (MEN 1), per il proto-oncogene *RET* (MEN2A), per i geni *HRPT2* (HPT-JT) e *CASR* (FHH) [2].

L'**adenoma paratiroideo** singolo rappresenta l'80% circa dei casi; adenomi multipli sono descritti nel 2-4% dei casi, mentre nei restanti, la malattia è sostenuta da iperplasia di tutte e quattro le ghiandole. Il **carcinoma**, invece, è molto raro (<0.5%). Adenomi paratiroidi possono riscontrarsi in siti ectopici, tra cui i più frequenti sono la tiroide, il mediastino superiore e il timo; occasionalmente, si

possono identificare nello spazio retroesofageo, nella sub-mucosa esofagea, nella faringe e nelle regioni laterali del collo [3].

Cenni di fisiologia dell'omeostasi del calcio e del paratormone

L'omeostasi del calcio è un processo complesso, che coinvolge quattro fondamentali componenti: calcio sierico (Ca), fosforo sierico (P), 1,25-diidrossi-vitamina D₃ e paratormone (PTH). Più del 99% del calcio corporeo totale è immagazzinato nell'osso, sottoforma di sali di fosfato e idrossido, prevalentemente come idrossiapatite. Solitamente, solo una minima parte di questo calcio complessato è disponibile per lo scambio nel siero (1%).

Le concentrazioni di calcio sierico ed extracellulare sono finemente regolate entro un fisiologico *range*, ottimale per molteplici funzioni cellulari in ogni tessuto e più specificatamente, è la componente ionizzata, quella che attiva tali funzioni, come catione divalente (Ca⁺⁺). Il calcio extracellulare è in concentrazioni molto vicine al suo punto di saturazione rispetto ai fosfati, così che minime deviazioni nella concentrazione di entrambi, possono causarne la precipitazione. Anche il calcio intracellulare, che esplica la funzione di secondo messaggero in diversi pathway di trasduzione del segnale, è strettamente regolato, ma a concentrazioni infinitesimali

rispetto al calcio extracellulare. Il calcio rappresenta il principale regolatore della secrezione del PTH: una lieve diminuzione nel siero provoca la secrezione di PTH in pochi minuti; mentre gli aumenti dei livelli di calcio nel liquido extracellulare ne riducono la produzione [4].

I dettagli della regolazione del trasporto dei minerali, in- ed extra-cellulari, sono ormai ben conosciuti, così come i loro meccanismi d'azione. Cambiamenti nelle concentrazioni di tali microelementi nei fluidi extra-cellulari corrispondono a cambiamenti e ridistribuzione intracellulari

Il calcio ed il fosforo, così come il magnesio, sono minerali caratterizzati da trasporto attivo e passivo tra sangue e cellule, nell'osso, nel rene e nel tratto gastroenterico. Questi meccanismi di trasporto si attuano sia a livello transcellulare, che paracellulare. In particolare, il trasporto paracellulare è generalmente di tipo passivo e mediato da gradienti elettro-chimici [4].

Ciò è reso possibile da corrispondenti processi di co-trasporto e di scambio con altri ioni, preferenzialmente, gli ioni sodio, potassio, cloruro, idrogeno e bicarbonato, processi in gran parte dipendenti da idrolisi dell'ATP. Meccanismi simili avvengono a livello intracellulare per la distribuzione del calcio, che si ripartisce soprattutto tra mitocondri e citosol [4,5] (Figura 1).

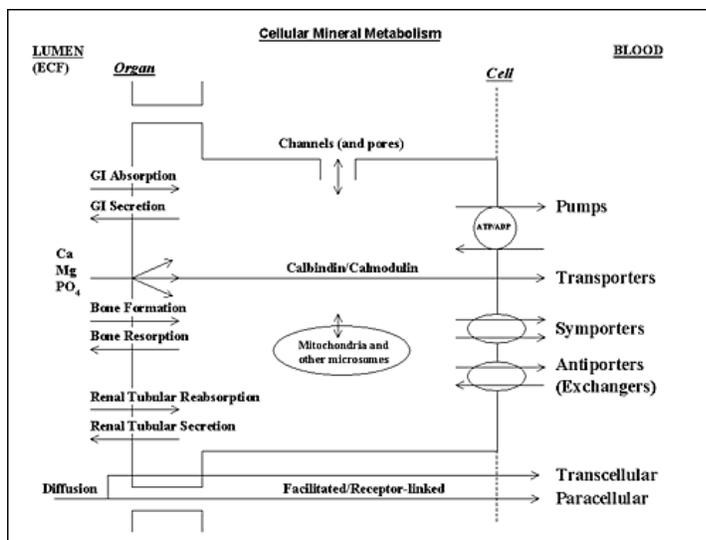


Figura 1

Approssimativamente, il 50% del calcio totale sierico è nello stato ionizzato, il restante si trova invece legato ad albumina o complessato con contro-ioni, inclusi i fosfati. Le concentrazioni di calcio ionizzato sono mediamente di 1.25 ± 0.07 mmol/L, mentre quelle del calcio totale sierico variano entro un range tra 8.5 e 10.5 mg/dL. Dal momento che è il calcio ionizzato l'elemento regolatorio principale, la sua omeostasi è fondamentale per tutte le funzioni bio-cellulari. Tale regolazione avviene tramite una stretta interazione a livello degli organi bersaglio, tra gli ormoni calcio-regolatori (paratormone, calcitonina e vitamina D) e i loro recettori cellulari. Tuttavia, sono coinvolti anche altri ormoni, prevalentemente steroidei, quali i corticosteroidi e gli steroidi gonadici [5].

Il metabolismo del calcio è stato recentemente associato a quello del **glucosio**, mediante gli effetti biologici di una proteina prodotta dagli osteoblasti, ovvero

l'osteocalcina. Una volta carbossilata, l'osteocalcina agisce come proteina strutturale dell'osso, tuttavia, nel suo stato non-carbossilato, agisce come proteina regolatrice nel metabolismo glicidico, stimolando la secrezione di insulina. Pertanto, due fondamentali pathway metabolici, *calcio* e *glucosio*, appaiono collegati [6].

Il turnover scheletrico, che ammonta a circa 250 mg/die di calcio, è dipendente dal *pool* di calcio labile, prossimo alle superfici ossee, con ampie variazioni anatomiche tra i compartimenti di calcio labile e non-labile. Il turnover è mediato osteoblasti (formazione di osso) ed osteoclasti (riassorbimento osseo). Tale turnover si modifica negli stati patologici, in cui si può avere aumento (p.es., iperparatiroidismo) o decremento (p.es., ipoparatiroidismo) con conseguenti cambiamenti nell'escrezione di calcio urinario. I principali ormoni regolatori e controregolatori del sistema omeostatico sono pertanto il paratormone e la vitamina D, che agiscono sull'osso, sul rene e sul tratto gastro-enterico, aumentando la calcemia e la calcitonina, che dall'altro lato, riduce la calcemia [7].

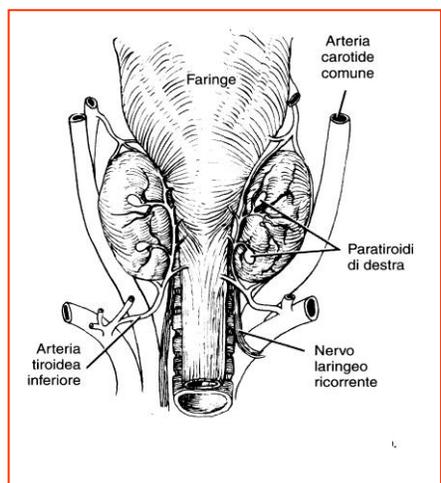


Figura 2

Il paratormone (PTH), secreto dalle paratiroidi (Fig.2) è un polipeptide di 84 aminoacidi (9500 PM), sintetizzato in forma di pre-pro-ormone, rilasciato da granuli secretori, una volta processato ad ormone e largamente metabolizzato a livello epatico, con un'emivita plasmatica di 20-30 minuti. Si lega ad un recettore glico-proteico (CaSR) di membrana, sulle cellule bersaglio, con conseguente formazione di AMPc. L'AMPc innesca l'attivazione a cascata di proteinchinasi e la fosforilazione di proteine implicate nel trasporto del calcio. Il PTH opera un riassorbimento di calcio e fosfato dall'osso, con effetti distinti, uno **rapido** nell'arco di minuti ed uno **lento** che si attua in giorni e settimane. Nella fase rapida, il legame recettore-osteocita attiva la pompa del calcio con conseguente rilascio di calcio dall'osteocita al versante extracellulare (LEC); durante la fase lenta, invece, vengono sia attivati gli osteoclasti preformati, sia formati nuovi osteoclasti [7]. (Secrezione ed interazione con gli organi bersaglio sono illustrati nella Figura 3).

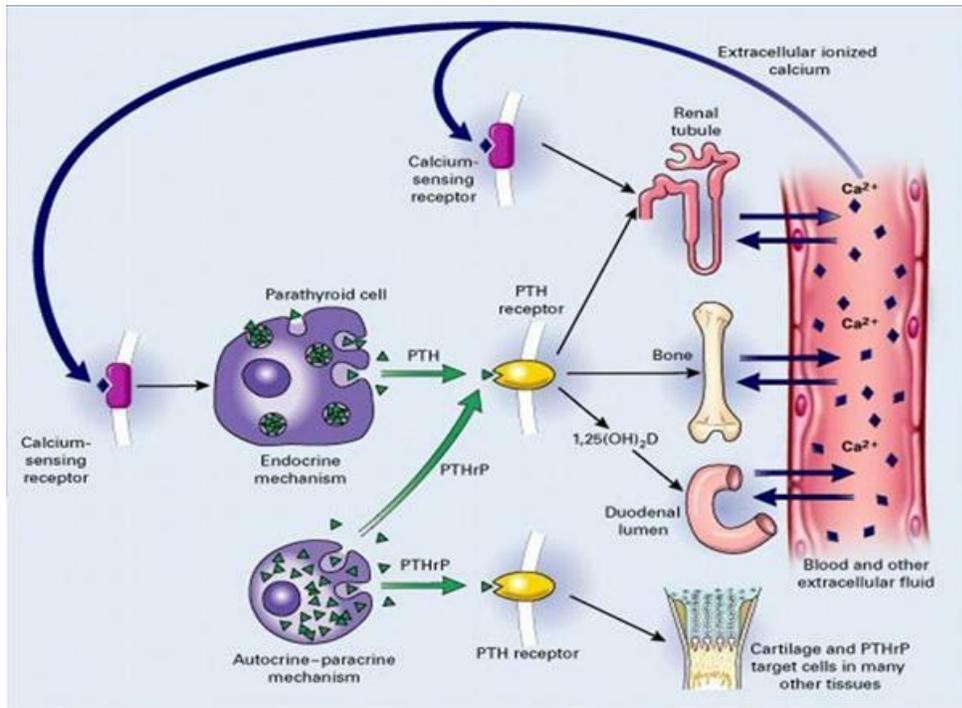


Figura 3

Recenti elucidazioni nei pattern di regolazione molecolare hanno stabilito non solo i *link* fisiologici a livello delle funzioni delle cellule ossee, ma anche *link* (patologici) tra cellule tumorali, sistema immune e cellule ossee, tramite i meccanismi di riassorbimento osseo da parte degli osteoclasti, che sono i mediatori cellulari finali in molti casi di ipercalcemia (Figura 4) [8]. Mediatore essenziale della formazione, funzione e sopravvivenza degli osteoclasti e della perdita di massa ossea, è il RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa B ligand), appartenente alla super-famiglia delle citochine TNF (*tumor necrosis factor*); gli altri componenti di questo *pathway* sono il recettore per il RANKL, RANK, e l'osteoprotegerina (OPG), un recettore "decoy", solubile per il RANKL [8,9,10].

Nella fisiologia del metabolismo osseo, il RANKL viene espresso sulla superficie delle cellule osteoblastiche stromali [8,9,10].

Legandosi al RANK, presente sui precursori degli osteoclasti, RANKL provoca l'enhancement dell'osteoclastogenesi. RANKL inoltre, attiva gli osteoclasti maturi. RANKL, fisiologicamente, è considerato un "*coupling-factor*", attraverso cui gli osteoblasti regolano gli osteoclasti e il processo di formazione di osso è accoppiato al riassorbimento.

Nella patofisiologia dell'ipercalcemia, molti tipi cellulari tumorali mediano il riassorbimento osseo, esprimendo forme solubili di RANKL, sRANKL, anomale per quantità e struttura. Inoltre, nell'infiammazione associata alle neoplasie, i linfociti T attivati esprimono quantità superiori di RANKL, con iperstimolazione degli osteoclasti. Gli effetti mediati dal RANKL sugli osteoclasti possono essere attenuati dal recettore "decoy" solubile OPG. Una disregolazione di questo sistema può manifestarsi con ipercalcemia, quando l'interazione RANKL, RANK, OPG e INF esita in una predominante attivazione degli osteoclasti [8,9,10] (Figura 4). Nell'IPP interviene una disregolazione a questo livello, implicata nella genesi dell'ipercalcemia ad esso associata.

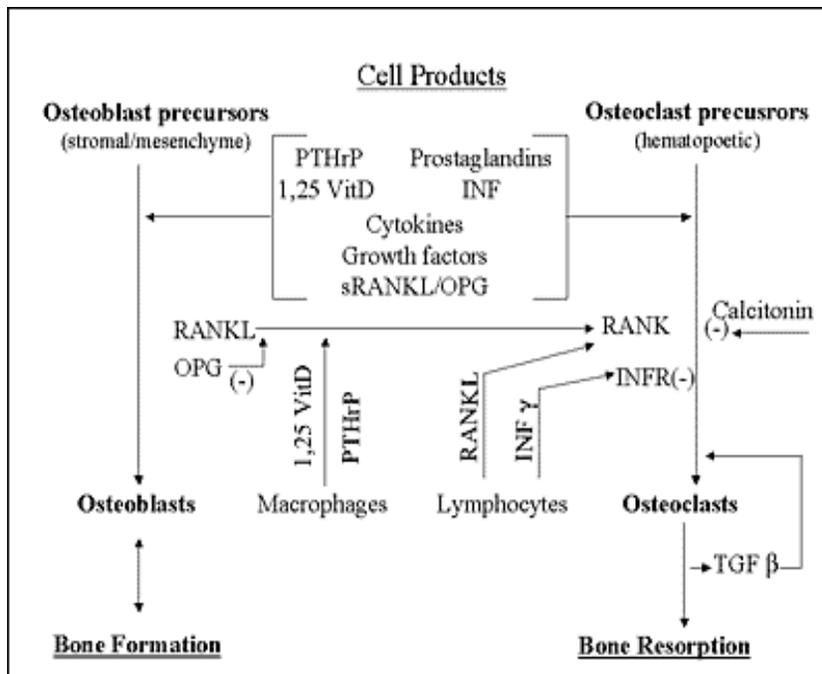


Figura 4. Schema del sistema RANK, RANK-L, OPG sul metabolismo scheletrico

CAPITOLO 2

Caratteristiche cliniche

Scheletro

Come enunciato, nelle ultime decadi la presentazione clinica della malattia è radicalmente mutata. La frequenza delle classiche manifestazioni radiologiche si sono ridotte dal 23% a meno del 2%, nell'esperienza di Silverberg et al [11].

In passato la maggior parte degli individui affetti mostrava tipiche lesioni, quali nefro-urolitiasi e/o osteite fibroso-cistica [12]. Attualmente le forme cosiddette tipiche, "sintomatiche", sono divenute una minoranza e sempre più spesso, la diagnosi viene posta in soggetti del tutto asintomatici o con manifestazioni sfumate.

Asintomatico, tuttavia, non significa esente da malattia; è, infatti, possibile evidenziare, tramite Densitometria Ossea, un deficit di massa ossea, di grado osteoporotico, più marcato a livello del tessuto osseo corticale, sito dove il PTH svolge un ruolo catabolico. Il terzo distale del radio è il sito più caratteristicamente coinvolto e pertanto, è stato a lungo un focale oggetto di investigazione. Tale reperto densitometrico si tradurrebbe in un aumentato rischio di fratture dell'avambraccio, mentre i dati relativi al rischio di fratture a livello della colonna vertebrale sarebbero controversi. Una proprietà fisiologica dell'ormone

paratiroideo è il suo effetto anabolizzante sull'osso trabecolare, come quello della colonna lombare. Il correlato densitometrico è un scarso coinvolgimento di questo sito osseo, dove la densità risulta spesso minimamente ridotta, tipicamente entro il 5% dei valori medi *age-matched*. L'anca, composta da elementi corticali e trabecolari, in percentuali quasi equivalenti, mostra quadri densitometrici intermedi tra l'osso corticale e il trabecolare. Confermando la specificità, nei suoi effetti, dell'ormone sui due tipi di osso. Le donne in post-menopausa, affette da IPP, presentano, pertanto, un capovolgimento del tipico pattern associato al deficit estrogenico postmenopausale, ovvero la perdita preferenziale di osso trabecolare. Queste osservazioni suggerirebbero un possibile ruolo dell' IPP nel prevenire l'osteoporosi dovuta alla deficienza estrogenica. Tuttavia, circa il **15%** dei pazienti affetti da IPP presentano osteopenia vertebrale, al momento della diagnosi. Tale reperto potrebbe essere dovuto ad una perdita di osso spongioso, dipendente dalla carenza estrogenica, occorsa prima dell'insorgenza dell'iperparatiroidismo [1,13].

L'**analisi istomorfometrica** di biopsie ossee dimostra l'assottigliamento corticale, il mantenimento volumetrico dell'osso trabecolare, nonché un processo dinamico ad alto turnover e di accelerato rimodellamento osseo. Uno dei meccanismi per cui l'osso spongioso viene preservato nell' IPP è il mantenimento delle interconnessioni tra i fasci trabecolari. Diversi studi hanno evidenziato come pazienti iperparatiroidici conservino tale caratteristica, indipendentemente dall'età,

risultando maggiormente protetti dalla fisiologica degenerazione di queste strutture, se paragonati con soggetti di pari età, non affetti [14].

Rischio di frattura

È noto come la densitometria minerale ossea possa fornire dati importanti nel predire il rischio fratturativo, in termini di incidenza. Dauphine et al. e Khosla et al. [15] hanno riportato un aumentato rischio di fratture vertebrali, dato però non confermato, da altri studi. Vignali et al. hanno mostrato che l'aumento delle fratture vertebrali, determinato tramite raggi-X, veniva riscontrato solo negli individui che presentavano i criteri per la terapia chirurgica [16].

Quando la frattura vertebrale è il primo evento patologico, raramente la causa si può ravvisare nell'IPP, tuttavia il dosaggio della calcemia è raccomandato in tutti i casi di nuova diagnosi di osteoporosi. Allo stesso modo, l'attesa di un aumentato rischio di fratture nei siti corticali, quali il terzo distale del radio, non è sufficientemente supportata dai dati finora disponibili. Mentre, studi su ampie casistiche di fratture della testa del femore, non individuano nell'IPP una causa comune.

È difficile definire un *assesment* del *risk fracture*, per i pazienti con IPP, proprio per la peculiarità degli effetti del PTH, sui diversi siti ossei, che concorrono a

determinare la qualità dell'osso *in toto*, non solo per il controbilanciamento tra funzione **anabolica** (osso spugnoso) e **catabolica** (osso corticale), ma anche per gli effetti sul diametro trasversale dell'osso; infatti, l'assottigliamento corticale (causa di fragilità) tende ad essere compensato da un incremento dell'apposizione periostale, che aumenta il diametro trasversale e di conseguenza, la resistenza dell'osso alle fratture [7,14,17].

Dopo paratiroidectomia, eseguita con successo, sono stati osservati incrementi nella BMD a livello della colonna lombare, dell'anca e con ritardo, anche al terzo distale del radio. Tali risultati sono confermati da metanalisi condotte da Sankaran et al. su *setting* di pazienti post-paratiroidectomia. Inoltre gli effetti della chirurgia sul rischio di fratture vennero valutati tramite ampi studi di coorte.

La sopravvivenza *fracture-free* era notevolmente migliorata dopo l'intervento chirurgico, se paragonata alla popolazione non sottoposta ad intervento [18].

Manifestazioni d'organo

La **nefrolitiasi bilaterale**, per quanto meno frequente rispetto al passato, è ancora la complicanza più comune di IPP (15-20% dei casi), mentre le altre complicanze a livello renale sono: nefrocalinosi, ridotta capacità di concentrazione urinaria (40%), aumentato rischio di sviluppare insufficienza renale. Le linee guida "*The*

National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI)” e del *KIDIGO* [12] raccomandano la misurazione del filtrato glomerulare con equazioni basate su più parametri antropometrici (età, sesso, razza, peso) e la misurazione serica di creatinina, albumina e urea.

Poiché i livelli di PTH cominciano ad elevarsi quando la filtrazione glomerulare raggiunge valori al di sotto di 60 mL/min/1.73 m², questa soglia è stata identificata dalla commissione del *PHPT Workshop* come criterio per la terapia chirurgica [19].

Tra le **alterazioni cardiovascolari** si osservano frequentemente Iperensione Arteriosa Sistemica, Ipertrofia Ventricolare Sinistra, calcificazioni miocardiche e valvolari, ridotta elasticità della parete arteriosa, maggiori valori di IMT. La maggior parte degli studi hanno riportato la persistenza di elevati valori pressori, anche dopo paratiroidectomia eseguita con successo, e pertanto l'iperensione arteriosa è stata esclusa dalle indicazioni alla terapia chirurgica.

Alcuni studi hanno riportato una maggiore prevalenza di **alterazioni metaboliche**, come Insulino-Resistenza, Intolleranza glucidica (IGT, IFG), Ipertrigliceridemia, Dislipidemia (riduzione del Colesterolo-HDL) ed Iperuricemia [11,12,19].

Alcuni studi epidemiologici hanno riportato una correlazione tra le anomalie metaboliche e cardiovascolari e l'aumento della mortalità cardiovascolare nell' IPP,

mentre i dati epidemiologici recenti non hanno confermato la precedente osservazione di un rischio più elevato di neoplasie maligne [19].

L'associazione tra IPP e disfunzioni immunologiche non è attualmente ancora riconosciuta, ma potrebbe essere di rilevanza clinica. In alcuni studi sono state riportate una ridotta resistenza alle infezioni ed una aumentata prevalenza di patologie maligne, con correlato aumento di mortalità per queste cause, tra i pazienti affetti. Una relazione tra IPP e infezioni è stata descritta come la quarta causa più frequente di morte prematura. Dei 55 geni, descritti tramite *Affimetrix*, che coinvolgerebbero il sistema immune innato, tre sarebbero notevolmente ridotti nella loro espressione, nell' IPP (*Componente 7 del Complemento*, *Componente 3b/4b del Complemento rec.1*, *Toll-like receptor-1*), mentre uno (*Clusterina*) risulterebbe aumentato. La produzione di IL-6, sIL-6R e TNF- α da colture di leucociti risulta elevata in pazienti iperparatiroidi, mostrando interessanti alterazioni biochimiche, PTH-dipendenti, nelle linee cellulari ematologiche. Reppe et al. hanno, inoltre, dimostrato marcate anomalie di mRNAs per immunoglobuline, recettori per Ig, mediatori della trasduzione del segnale e fattori di crescita [20].

A livello dell'**apparato gastroenterologico**, l'incidenza di ulcera peptica sembra approssimarsi al 10%, percentuale riscontrabile nella popolazione generale, con netto miglioramento della sintomatologia associata in seguito a paratiroidectomia.

Sebbene l'ipercalcemia possa essere causa di pancreatite, nella maggior parte degli studi, la pancreatite è stata riportata solo nell'1.5% dei casi circa [11].

Molto frequenti sono, inoltre, alcune **patologie neuropsichiche**, quali depressione, ansia e difficoltà cognitive, ma a causa della non specificità (p.es. disturbi del sonno, irritabilità, somatizzazioni, apatia) e della difficile quantificabilità di tali riscontri, risulta tuttora complicato stabilire delle associazioni e soprattutto attribuire ad esse una precisa collocazione nell'ambito delle linee guida e delle indicazioni chirurgiche [11, 21].

Nel corso del Terzo Workshop sull'Iperparatiroidismo Primario (2008) è stato effettuato un'ampio *update* per quanto riguarda presentazione clinica e storia naturale dell'IPP, sono stati rivisitati i dati (dal 1996 al 2008) sulle forme tipiche (con ipercalcemia), la variante normocalcémica ed, inoltre, sono state focalizzati gli aspetti riguardanti le manifestazioni non classiche, soprattutto in presenza di IPP asintomatico o *mild* [19, 22, 23] .

È ben noto come le diverse **manifestazioni neuromuscolari**, appaiano strettamente correlate con la severità dell'ipercalcemia e con gli elevati valori di PTH; i sintomi, quali astenia, debolezza e facile faticabilità muscolare, potrebbero inoltre

essere in parte riferibili al deficit di vitamina D. Nell'IPP è stata riportata una compromissione, prevalentemente, nei muscoli delle estremità prossimali inferiori, (p.es. il m. quadricipite), e la forza di estensione isometrica del ginocchio è considerato un parametro notevolmente implicato nella capacità di eseguire performance e attività quotidiane (abilities daily life) [24]. Diversi studi sono stati condotti sulla forza muscolare nell'IPP, focalizzati su pazienti nel post-paratiroidectomia e un miglioramento è stato riconosciuto, pressochè, nella maggior parte di essi. Ciò che si può osservare, in tutti questi trials, è però, la grande variabilità dei parametri della funzione muscolare misurati e dei gruppi muscolari esaminati: forza isocinetica dei quadricipiti a velocità differenti, caratteristiche della risposta del m. tibiale anteriore alla stimolazione elettrica, forza isometrica, nonché la sensazione soggettiva di stanchezza e la forza dei muscoli respiratori. In uno studio prospettico (Soren et al), condotto su donne con IPP mild-moderato sottoposte ad intervento di paratiroidectomia, veniva valutata oltre che la forza di estensione del ginocchio, anche la forza muscolare dell'arto superiore (*handgrip force*), tramite dinamometro manuale e tramite la tecnica di *superstimolazione* elettrica; lo studio portò all'osservazione di un significativo aumento di forza al m. quadricipite nel post-intervento, dovuto non all' incremento dell'attivazione muscolare, cioè indipendentemente dalla trasmissione neuromuscolare, ma alla maggiore capacità del muscolo di generare forza

contrattile (miglioramento del 17% nei parametri misurati dopo 3 mesi), con una buona correlazione con l'età dei soggetti. Risultati simili venivano raggiunti per il m. tibiale anteriore, mentre per quanto riguardava l'*handgrip force* i dati non sembravano conclusivi [24, 25].

Per la difficile caratterizzazione di questi aspetti, già dal *PHPT Workshop* del 2002, sono stati utilizzati diversi strumenti di valutazione, come Short-Form 36 (SF-36), Medical Outcomes SF-36, o “Parathyroid Assessment of Symptoms” (Pasiaka et al.). Numerosi studi hanno inoltre valutato, mediante tali test, gli effetti della paratiroidectomia sulla percezione di energia e fatica, riportando in alcuni di essi che prendevano in esame soggetti “mild”, un miglioramento della qualità di vita e della performance fisica (Sheldon et al.; Quiros et al.), dopo solo un mese di osservazione dall'intervento, periodo troppo breve per una determinazione certa dei possibili effetti attribuibili alla chirurgia [11,26].

CAPITOLO 3

Deficit di Vitamina D

Un' interessante associazione fu riportata tra la presenza di iperparatiroidismo primario e manifestazioni di deficit vitaminico, già negli anni '70, quando Lumb e Stanbury suggerirono il peggioramento della malattia in presenza di ipovitaminosi D. Questa osservazione è stata poi estesa anche all' IPP asintomatico, *mild*, in cui bassi livelli di vitamina 25(OH)D, correlavano con un aumento degli indici di attività di malattia. Da ciò, la logica deduzione che il ripristino di valori circolanti, normali, della vitamina D, tramite adeguata supplementazione, potesse portare ad un miglior controllo dell'IPP. Anche studi a livello istomorfometrico, tramite biopsie ossee di soggetti affetti, hanno mostrato che l'attività di malattia correla strettamente con lo status vitaminico dei pazienti e che coloro che appartengono al terzo percentile inferiore, presentano i maggiori cambiamenti strutturali a livello dell'osso corticale, in termini di riduzione e mantengono invariata la citoarchitettura dell'osso spongioso [27].

Amstrup et al. riportarono una relazione tra i valori di vitamina D e la forza muscolare nell'Iperparatiroidismo Primario. Bassi valori di vitamina 25(OH)D sono di comune riscontro e ciò si traduce in una riduzione della capacità funzionale

muscolo-scheletrica (forza globalmente intesa, stabilità posturale e performance muscolare, *endurance*). I meccanismi che sottendono questa relazione tra deficit di vitamina 25(OH)D, IPP e coinvolgimento muscolare non sono del tutto note, le teorie sono molteplici: espressione di recettori PTH/rPTHrP nel cervello e nel muscolo, la cui attivazione porterebbe ad un'alterata espressione genica [28]; aumentata conversione della forma 25(OH)D in 1,25(OH)₂D o 24,25-diidrossicolecalciferolo; ridotta biodisponibilità di 25(OH)D dovuta ad un maggiore accumulo nei compartimenti adiposi. Un'ulteriore ipotesi spesso al vaglio dei ricercatori in questo campo, è quella che una ipovitaminosi D cronica porterebbe ad una stimolazione della secrezione di PTH e alla formazione di adenoma e IPP [28].

I *cross-sectional trials* condotti da Amstrup et al. confermano i dati osservati in precedenti studi, sulla miopatia prossimale, coinvolgente le estremità inferiori, e sul suo significativo miglioramento dopo paratiroidectomia, inoltre mostrano come i livelli serici di vitamina D, dopo 5 anni dalla terapia chirurgica, di pazienti con precedente IPP, diventino equiparabili a quelli di controlli sani *age* e *sex-matched*, supportando la teoria che l'IPP in sé sia la causa dell'ipovitaminosi [28].

CAPITOLO 4

Aspetti biochimici

I principali marker biochimici della malattia sono l'ipercalcemia, un aumento assoluto o relativo dei livelli serici di PTH e normo- o ipofosforemia. Nella maggioranza dei pazienti l'ipercalcemia è di grado lieve (≤ 12 mg/dl), la fosforemia è ai limiti bassi del range di normalità, mentre solo il 25% è francamente ipofosforemico. Gli indici di turnover osseo, quali Osteocalcina, Fosfatasi Alcalina (isoenzima osseo), N-Telopeptide e Desossipirolidina, risultano aumentati nel 40-80% dei casi. La vitamina 25 OH (D) è spesso ridotta, mentre i livelli di 1-25 (OH) D risultano nella norma o aumentati, per il noto effetto stimolatorio del PTH sul processo di conversione dalla forma 25 (OH) D alla forma 1-25 (OH) D. Nel 40-50% dei pazienti affetti si osserva anche ipercalciuria. I pazienti che non presentano né i sintomi, né le complicanze, comunemente associate all'ipercalcemia e agli aumentati livelli di PTH, rientrano nella categoria dell'IPP *mild*, i cui parametri biochimici sono stati mostrati, da Silverberg e Bilezikian, in uno studio di coorte, che risale a circa 15 anni orsono [1,13,19](**Tabella 1**).

Table 1 Baseline Biochemical Indices in Mild Primary Hyperparathyroidism^a		
Index	Patient values (mean [±SD])	Reference range
Calcium, mg/dL	10.7 (±0.1)	8.4-10.2
Phosphorus, mg/dL	2.9 (±0.1)	2.5-4.5
Alkaline phosphatase, U/L	114 (±4)	<100
Parathyroid hormone, pg/mL	121 (±7)	10-65
25-Hydroxyvitamin D	21 (±1)	9-52
1,25-Dihydroxyvitamin D	59 (±2)	15-60
Urinary calcium, mg/24 h	248 (±12)	100-300
DPD, nmol/mmoL Cr	17 (±6)	4-21

^aThe values for this table were obtained from the cohort of patients followed up by Silverberg and Bilezikian et al over the past 15 years.

Tabella 1. Parametri biochimici in pazienti IPP mild

I valori mostrati in questa tabella sono stati ottenuti in uno studio di coorte, da Silverberg e Bilezikian [19]

Le linee guida per il monitoraggio dei pazienti che non si sottopongono ad intervento chirurgico sono mostrate nella **Tabella 2**. Annualmente, è necessario misurare il calcio totale sierico e la clearance della creatinina. La densitometria minerale ossea va ripetuta ogni 12-24 mesi [1,19].

Parametri	Frequenza di misurazione
Calcio sierico	Annuale
Clearance della creatinina	Annuale
Densitometria minerale ossea	Ogni 12-24 mesi

Tabella 2. Dal “2008 National Institutes of Health Workshop”

CAPITOLO 5

Diagnosi

La diagnosi è prevalentemente biochimica e si basa sul rilievo simultaneo di ipercalcemia e di alterazioni nei livelli di PTH circolante. Le concentrazioni plasmatiche dell'ormone risultano aumentate nel 70-80% degli individui affetti. Se non francamente elevato, il PTH si colloca, tuttavia, nella metà superiore del range di normalità; questa considerazione è importante soprattutto per la diagnosi differenziale degli stati ipercalcemici, in quanto nei casi non sostenuti da IPP, Ipercalcemia Ipocalciurica Familiare (FHH) o ipercalcemia iatrogena, da uso di diuretici tiazidici o litio, il paratormone risulta invariabilmente soppresso, come ad esempio nelle ipercalcemie di origine maligna (seconda causa più comune di ipercalcemia) [29].

Una nota eccezione alla regola per cui i pazienti con ipercalcemia ed elevati livelli di PTH siano affetti da IPP, è l'Ipercalcemia Ipocalciurica Familiare (FHH), dovuta ad una rara mutazione inattivante, a livello del gene che codifica per il *calcium sensing receptor (CASR)*, e che si esplicita in un aumento del *set point* per la soppressione della secrezione di PTH, in risposta al calcio sierico. L'espressione clinica dell'FHH, con lieve ipercalcemia, tipicamente avviene in età infantile o

giovanile e, usualmente, coesiste una storia familiare di ipercalcemia asintomatica. La mutazione inattivante colpisce anche la funzione renale, con un *enhancement* del riassorbimento tubulare di calcio, con conseguente ipocalciuria e un rapporto clearance del calcio su clearance della creatinina (Ca/Cr) inferiore a 0,01. È importante distinguere tra IPP e FHH, poiché nel secondo caso la chirurgia non trova indicazione. In considerazione dell'alta penetranza dell'FHH, una corretta diagnosi differenziale è particolarmente importante in età giovanile e in casi dubbi, si rende necessario effettuare il sequenziamento del gene CASR.

Oltre all'FHH, all'ipercalcemia indotta da tiazidi e litio, un'altra causa di ipercalcemia e PTH elevato, o non soppresso, è l'Iperparatiroidismo Terziario, dovuto a IRC in stadio avanzato. In questo caso, sembrano intervenire sostanziali cambiamenti nei meccanismi di compenso, da parte delle ghiandole paratiroidi, (per esempio quello che si instaura in risposta all' ipocalcemia cronica, presente nell'IRC), così che le paratiroidi acquisiscono un'autonomia funzionale, perdendo il fisiologico meccanismo di feedback.

Molto raramente, sono state descritte patologie maligne in cui veniva prodotto autentico PTH ectopico. Attualmente, in pazienti con neoplasie maligne note, ipercalcemia e livelli di PTH elevati, si ritiene che sia più comune un IPP concomitante. Molto più comune, invece, in questo *setting* di pazienti è la produzione della *proteina correlata all'ormone paratiroideo* (PTHrP). Questa

condizione non presenta un problema nella misurazione del PTH, dal momento che con i moderni *immunoassays* non si ha alcuna cross-reazione tra le due molecole [30].

La diagnosi di IPP può essere posta, inoltre, in individui che presentino calcemia totale e calcio ionizzato sierico nella norma, ma i cui livelli di PTH circolante risultino persistentemente elevati. Prima di porre una diagnosi di *Iperparatiroidismo primario normocalcemico* è necessario considerare ed escludere ogni causa secondaria di iperparatiroidismo. È essenziale, a tal fine, riconoscere la presenza di una insufficienza di vitamina D, coesistente, soprattutto, in quanto prima causa di aumento del PTH. Supplementando questi pazienti con vitamina D, a dosaggi tali da raggiungere i livelli, considerati normali (p.es., 25-idrossi-vitamina D > 30 ng/mL), spesso si osserva il rientro dei valori dell' ormone nel range di normalità. Se il PTH permane elevato e la calcemia risulta nella norma, dopo efficace replezione di vitamina D, e altre cause vengono adeguatamente escluse, la suddetta diagnosi può essere seriamente considerata. Poiché i dati a disposizione, riguardo al decorso clinico dell'IPP normocalcemico, sono ancora esigui, non sono state delineate chiare indicazioni all'intervento chirurgico. In occasione del *3rd International Workshop on the Management of Asymptomatic PHPT*, l'IPP *normocalcemico*, è stato riconosciuto, per la prima volta, come un'entità nosologica ben definita, ovvero come una forma di IPP, in cui i livelli

sovrannormali di PTH non sono associati alle cause note di iperparatiroidismo secondario, quali insufficienza renale cronica (IRC), ipovitaminosi D e sindromi da malassorbimento [19,22,23,29,30].

Indagini strumentali

Attualmente l'impiego di test strumentali non invasivi per la localizzazione preoperatoria della lesione paratiroidea è sempre più praticato. Tale approccio risulta indispensabile in previsione di tecniche chirurgiche *mini-invasive*.

Le indagini più efficaci a questo scopo sono l'ecografia ad alta definizione del collo e la scintigrafia paratiroidea con Tc-99 sestaMIBI (con o senza SPECT) [1].

Solo l'intervento chirurgico è in grado di risolvere in modo definitivo la malattia. La terapia chirurgica è sicuramente indicata nelle forme "sintomatiche", "conclamate", mentre è ancora dibattuta l'indicazione nei casi "asintomatici", (*forme mild*)[19].

Studi clinici prospettici hanno documentato che i pazienti cosiddetti "asintomatici" non peggiorano nel corso degli anni e pertanto l'approccio chirurgico non sembrerebbe giustificato. Tali pazienti non operati, tuttavia, devono essere monitorati con valutazioni periodiche della calcemia, della funzionalità renale e

della densità minerale ossea, soprattutto dal momento che non si dispone di sicuri indicatori predittivi di progressione di malattia [19].

CAPITOLO 6

Indicazioni chirurgiche - Linee guida

La **Tabella. 3** riporta i criteri adottati da una recente *Consensus Internazionale* [19] di esperti, per una corretta scelta terapeutica nell'IPP "asintomatico".

Tabella 3 RACCOMANDAZIONI PER LA PARATIROIDECTOMIA NEL PHPT ASINTOMATICO

MISURAZIONI	RACCOMANDAZIONI
GFR	<60 mL/min
BMD	T-score <-2.5 DS in qualunque sito e/o presenza di pregresse fratture da fragilità
Età	<50 anni
Calcio sierico*	>1 mg

*sopra i limiti di normalità

L'approccio terapeutico, non chirurgico o conservativo comprende le misure non farmacologiche, quali un adeguato apporto alimentare di calcio (circa 1 g/die), abbondante idratazione, attività fisica regolare e alcuni interventi farmacologici [31]. Tra questi ultimi, i risultati più evidenti a livello osseo sono stati ottenuti con i

Bifosfonati, in particolare, con l'*Alendronato*; ciò è dimostrato da un incremento di massa ossea, associato ad una riduzione degli indici del *turnover* osseo, senza marcate influenze sulla calcemia. Tra i farmaci ad azione calcimimetica, il *Cinacalcet* si è rivelato particolarmente efficace nel controllo della calcemia, anche a lungo termine [8,31].

CAPITOLO 7

Background

La forza muscolare rappresenta un elemento molto importante e un parametro sempre più largamente studiato nella valutazione dello stato funzionale globale di un individuo, in particolar modo nel soggetto anziano. Il deterioramento muscolo-scheletrico è legato alla riduzione, correlata all'età, di massa e qualità del muscolo, che viene denominata *sarcopenia* [32]. La prevalenza della sarcopenia varia dal 13 al 24% in soggetti al di sopra dei 60 anni e raggiunge il 50% in soggetti con più di 80 anni [32]. Il picco di massa muscolare è stato osservato tra la seconda e la quarta decade di vita, seguito da un costante decremento con gli anni, approssimativamente dell'1% per anno. La sarcopenia è strettamente associata al declino delle attività giornaliere, all'aumentato rischio di ospedalizzazione, al decadimento cognitivo ed ad una accelerata mortalità. Numerosi fattori sono alla base del decadimento della forza muscolare correlato all'età, tra cui BMI, funzionalità gonadica, esercizio fisico e fattori nutrizionali (deficit proteico, deficit di vitamina D) [32].

Bilezikian et al, in uno studio prospettico su 16 donne con IPP, riscontrarono in 14 di esse, debolezza, facile faticabilità ed atrofia muscolare, a livello delle estremità

inferiori. Le elettromiografie di queste pazienti mostravano breve durata e bassa ampiezza dei potenziali di unità motoria in alcune, potenziali polifasici e di ampiezza abnorme in altre. Le velocità di conduzione dei motoneuroni e le latenze sensitive distali erano nella norma. Ma la scoperta più rilevante fu il riscontro biotico, di un'atrofia delle fibre muscolari di tipo I e II, ma soprattutto di un più marcato ed esteso coinvolgimento delle fibre di tipo II. Tutte queste pazienti si sottoposero ad intervento di paratiroidectomia (adenoma), con conseguente beneficio, dopo poche settimane dall'intervento. Le conclusioni furono che, molto probabilmente, pazienti con IPP hanno una patologia neuromuscolare, reversibile dopo trattamento, di tipo neuropatico [33].

La perdita di fibre muscolari età-dipendente, inizia in una fase precoce nelle donne, rispetto agli uomini, a causa dei cambiamenti nell'assetto ormonale, che intervengono durante e dopo la menopausa. Numerosi studi hanno infatti mostrato un declino accelerato di massa e forza muscolari già nei primi anni della menopausa [33]. Un nostro recente lavoro ha mostrato, in un gruppo di 194 di donne sane, valori di forza muscolare maggiori nelle donne fertili rispetto a quelle in menopausa. Inoltre, a parità di età, la forza muscolare risultava maggiore nelle donne non in menopausa. Nonostante sia quindi ancora discusso il possibile effetto diretto degli estrogeni a livello del muscolo scheletrico, i nostri dati hanno dimostrato come la menopausa rappresenti un fattore determinante nel declino

funzionale muscolare, nonché indipendente anche dall'età [33]. Tra gli altri fattori che influenzano la performance del muscolo scheletrico, dobbiamo inoltre ricordare quelli legati al tessuto osseo. La relazione tra densità minerale ossea (BMD), massa magra e forza muscolare è stata ampiamente descritta, e la perdita di osso età-dipendente è notoriamente associata ad un decremento della massa e della funzione muscolare. In letteratura, è presente una corposa mole di studi, che mostrano come il carico muscolare eserciti un effetto positivo sull'osso, indipendentemente dal peso corporeo. Inoltre, numerosi studi hanno mostrato che esiste una correlazione positiva tra densità minerale ossea (BMD) e forza muscolare sia a livello degli arti superiori che degli arti inferiori. Alcuni autori suggeriscono anche un effetto diretto e distretto-specifico, della forza muscolare sulla BMD. In particolare, a livello dell'arto superiore, Di Monaco et al. riportano una correlazione positiva tra BMD al terzo distale del radio e la forza muscolare in donne in postmenopausa. Infine, è stata dimostrata anche una correlazione negativa tra l'*handgrip strenght* e aumento del rischio di frattura (33, 34, 35).

Tra le metodiche utilizzate nella misurazione della forza muscolare, la valutazione della forza isometrica è ormai ampiamente diffusa in diversi contesti clinici. Specificatamente, è stato dimostrato che la forza sviluppata a livello dell'arto superiore, misurata tramite la valutazione dell'*handgrip strenght*, è in rapporto diretto con la forza dei gruppi muscolari degli arti inferiori. Questo parametro viene

pertanto comunemente utilizzato nella valutazione della forza muscolare globale. L' *handgrip strenght* è inoltre stato dimostrato essere un fattore predittivo per mortalità da tutte le cause tra la popolazione più anziana [33]. Il nostro precedente lavoro ci ha permesso di valutare, attraverso l'utilizzo di un dinamometro manuale innovativo, l'*handgrip strenght* in un numeroso campione di riferimento di 194 donne sane in un ampio range di età (21-82 anni) [33]. Abbiamo stimato, inoltre, un tasso di riduzione dei valori di forza muscolare di 4,72 Newton/anno dopo i 40 anni, nonchè definito una curva di riferimento dell'andamento dell'*handgrip strenght* rispetto all'età (**Figura 5, A, B**)[33].

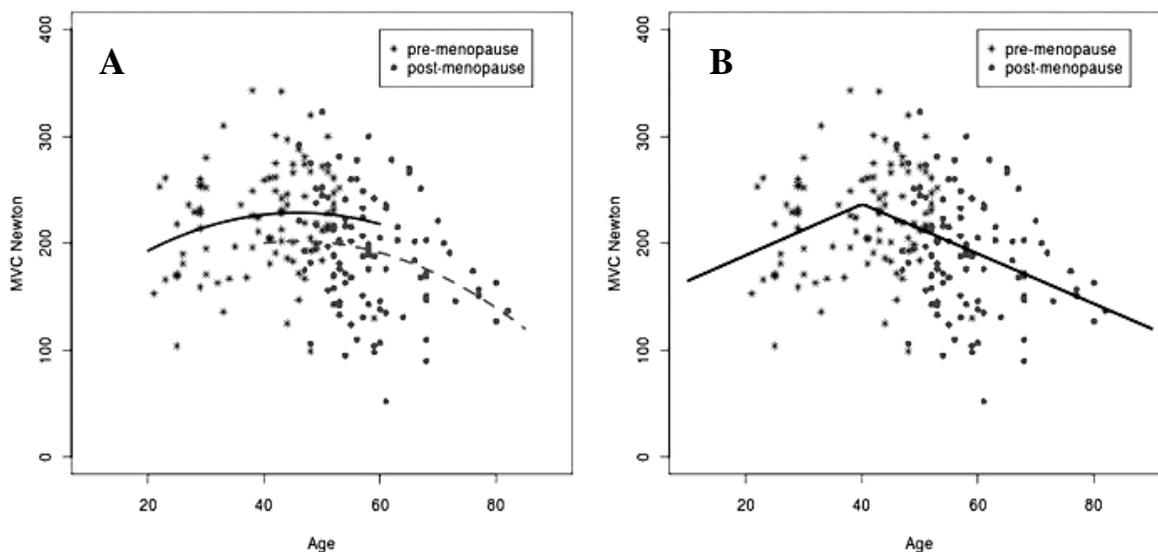


Figura 5 (A): Relazione tra MVC ed età nell'intero campione (n=194), aggiungendo la menopausa come variabile. L'equazione stimata è $MVC = 116.69 + 4.89 \times \text{età} - 0.05 \times \text{età}^2 - 26.64 \times \text{menopausa}$.

Figura 5 (B): Stima dello *split point* nella correlazione tra MVC ed età nell'intero campione (n=194). I valori di MVC aumentavano significativamente fino all'età di 40.08 (DS. 3.9 anni), che rappresenterebbe lo *split point* stimato ($p < 0.05$).

Obiettivi dello studio

Scopo dello studio è stato quello di valutare la forza a livello della muscolatura distale dell'arto superiore dominante, in donne in menopausa, affette da Iperparatiroidismo Primitivo (IPP), confrontandola con quella di donne sane di pari età. Abbiamo inoltre valutato l'effetto dei principali parametri del metabolismo minerale e della densità minerale ossea sulla forza muscolare. Infine, nelle pazienti con IPP è stata effettuata una seconda valutazione, a distanza dall'intervento chirurgico nelle pazienti operate o una rivalutazione di follow-up nelle pazienti non operate.

Disegno dello studio

Entrambi i gruppi (donne affette da IPP e controlli sani) erano costituiti da pazienti afferenti al nostro Centro. Tali gruppi risultavano omogenei dal punto di vista delle caratteristiche antropometriche (età, BMI, abitudini tabagiche, assunzione di alcool, livelli di attività fisica giornaliera) e delle comorbidità.

Nella fase di reclutamento abbiamo rispettato i criteri di inclusione ed esclusione riportati nella **Tabella 4**.

Tabella 4. Criteri di inclusione e di esclusione

Criteri di inclusione	Criteri di esclusione
Menopausa da almeno 12 mesi (per tutti e due i gruppi) Diagnosi biochimica di IPP (gruppo pazienti)	Menopausa precoce Malattie autoimmuni e reumatologiche Malattie neuromuscolari Alterata funzionalità tiroidea Insufficienza renale Assunzione di farmaci che interferiscono con il metabolismo osseo Supplementi di vitamina D e calcio negli ultimi 6 mesi Assunzione di farmaci che possano avere effetti a livello muscolare (es. statine) Patologie muscolo-tendinee a livello degli arti superiori

Lo studio si è quindi svolto in due **fasi sequenziali**:

Fase trasversale, della durata di circa due anni in cui abbiamo arruolato e studiato un gruppo di 48 donne in post-menopausa affette da IPP ed un gruppo di controllo, costituito da 38 donne sane, di pari età.

Fase longitudinale, in cui solo un sottogruppo di 30 pazienti, affette da IPP, sia operate, che non operate di paratiroidectomia, sono tornate a visita di controllo presso il nostro Centro, a 12-24 mesi circa dalla prima osservazione; le pazienti operate sono state rivalutate a circa 12 mesi dall'intervento.

CAPITOLO 8

Materiali e Metodi

Abbiamo studiato 48 donne in post-menopausa affette da IPP (età media $60,8 \pm 5,6$ SD anni; BMI $25,6 \pm 5,5$ kg/m²) ed un gruppo di donne sane di controllo di pari età (n=38, età media $58,6 \pm 5,8$ anni; BMI $25,2 \pm 3,5$ kg/ m²).

Il protocollo è stato approvato dal Comitato Etico dell'Università Sapienza di Roma.

I criteri di esclusione sono stati: malattie o terapie farmacologiche capaci di alterare il metabolismo osseo e/o la forza muscolare. Nessuno dei soggetti in studio era impegnato in attività di allenamento di resistenza né era attuale fumatore.

Forza muscolare

In tutti i soggetti sono state misurate la massima contrazione volontaria (MVC, Newton, N) in posizione seduta mediante Handgrip Dynamometer (Kayser Italia s.r.l.) a livello dell'arto superiore dominante (**Figura 6 e 7**).

Figura 6. CHIRO Instrumentation (HGD & PFD tools)



Figura 7. CHIRO Instrumentation (HGD & PFD tools)

Tale strumento è parte del Facility “*Hand Posture Analyzer*” ed è composto da un set di strumenti progettati e sviluppati da Kayser Italia s.r.l. , Livorno, sotto le direttive ASI (Agenzia Spaziale Italiana).

Esso è stato pertanto finora utilizzato esclusivamente nello studio della forza muscolare dell’arto superiore negli astronauti durante le missioni spaziali. L’“*Hand Posture Analyzer*” Facility consiste in un *Handgrip Dynamometer* e un *Pinch Force Dynamometer*, che sono dinamometri isometrici, designati per misurare l’*hand grip force* e la *pinch force*.

Lo strumento è facile da utilizzare anche nei pazienti anziani e rappresenta un assai utile strumento aggiuntivo nella valutazione clinica dello stato funzionale in ogni gruppo di età.

I dinamometri sono connessi a dei terminali, a loro volta collegati ad un *laptop* attraverso una PCMCIA card, utilizzata sia per l'acquisizione dei dati, che per la visualizzazione in tempo reale dei valori di forza. I range di forza sono rispettivamente 40-1000 Newton e 0-270 Newton per l'*hand grip force* e la *pinch force*, con un'accuratezza di misurazione dello 0,75% sull'intera scala di gradazione.

L'imprecisione a breve –termine, per l'MVC, è stata calcolata su un campione di soggetti sani, che hanno effettuato 5 volte la prova di forza muscolare e risultava <5%.

Il test, che richiede una buona collaborazione da parte del paziente, si svolge in meno di 5 minuti, in posizione seduta, utilizzando una poltrona standard.

Lo strumento viene impugnato nella parte centrale della barra, il gomito funge da perno sul piano di appoggio, con un'inclinazione dell'avambraccio tra 30° e 60°, rispetto al piano stesso. La prova è suddivisa in tre livelli a difficoltà crescente.

È un test molto semplice, e per tale motivo, potrebbe essere adottato routinariamente nella pratica clinica ambulatoriale, in ogni fascia di età, nei casi in

cui si riveli indispensabile completare il quadro clinico, con un *assessment* delle performance fisiche del soggetto, potendo confrontare l'MVC nel tempo.

Densità di massa ossea (BMD)

La densità minerale ossea(BMD) è stata misurata a livello lombare, del femore totale, del collo del femore e del terzo distale del radio non dominante in tutti i soggetti in studio mediante Dual X-ray absorptiometry

(Hologic QDR 4500, Waltham, MA) (**Figure 8, 9, 10**).



Figura 8, DXA, Hologic 4500 QDR

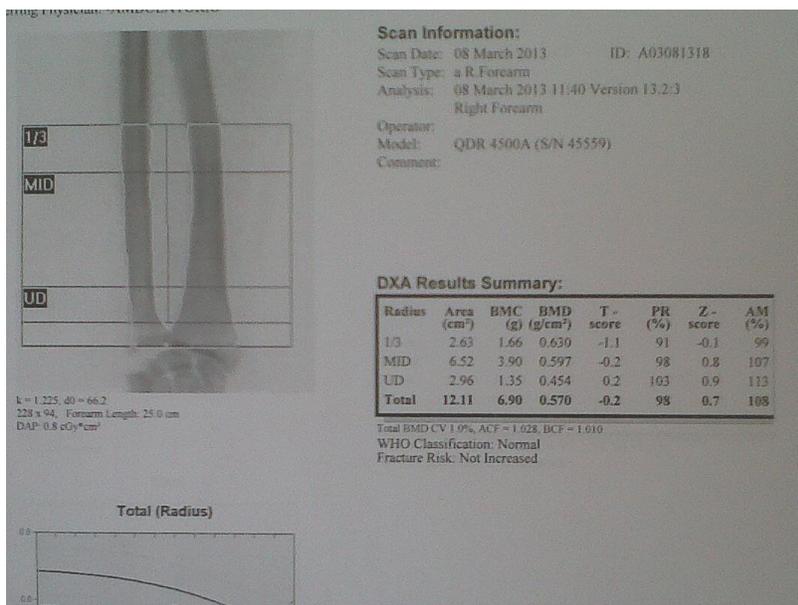


Figura 9, DEXA terzo distale del radio



Figura 10 (A, B, C): MID, UD, terzo distale del radio.

Le vertebre fratturate sono state escluse dalla misurazione.

I coefficienti di variazione (CVs) sono: 1.0% (L1-L4), 1,5% (collo femorale); 1.7% (totale) e 1.3% a livello del radio distale.

La BMD è stata espressa mediante grammi per centimetro quadrato (g/cm^2) e unità di T score.

Biochimica

I campioni di sangue sono stati prelevati a digiuno tra le 08:00 e le 09:00 del mattino, conservati ad una temperatura di -70 gradi centigradi ed infine saggiati in un singolo lotto al termine dello studio.

Sono stati misurati I livelli sierici di 25- idrossivitamina D [25(OH)D],

Calcio ionizzato, fosforo (P), Paratormone (PTH) e miostatina.

I livelli sierici di calcio ionizzato Ca^{++} sono stati determinati utilizzando un elettrodo ione specifico (Nova 8; Nova Biochemical, Waltham, MA).

I livelli sierici di vitamina D sono stati misurati mediante Radioimmunoassay RIA (RIA) (Inc Stillwater, MN); i coefficienti di variazione (CV) intra ed inter assay sono stati rispettivamente di 8,1 e 10,2%.

I livelli sierici di $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ sono stati determinati mediante RIA (IDS; Nordic, Herlev, Danimarca); i coefficienti di variazione intra ed inter assay sono stati rispettivamente di 9.3 and 9.6%.

I valori sierici di PTH sono stati testate mediante assay immunoradiometrico (IRMA; N-tact PTHSP; Diasorin Inc.); i coefficienti di variazione intra ed intra assay sono stati rispettivamente del 3 e del 5.5%.

La miostatina sierica è stata misurata utilizzando un Kit ELISA disponibile in commercio (Immundiagnostik, KR1012, Bensheim, Germania).

Un sottogruppo di 30 pazienti affetti da Iperparatiroidismo primitivo ha accettato di partecipare alla fase longitudinale dello studio. Di questi, 15 sono stati sottoposti a paratiroidectomia (gruppo chirurgico) e 15 non sono stati sottoposti a trattamento chirurgico (gruppo di osservazione).

La forza muscolare, la BMD ed i parametri biochimici sono stati rivalutati 24 mesi dopo la paratiroidectomia nel gruppo sottoposto a chirurgia e nel gruppo di osservazione.

Analisi statistica

I risultati sono riportati come valori medi \pm deviazione standard. Le comparazioni tra gruppi sono state eseguite mediante il test di Wilcoxon Rank-Sum test.

L'associazione tra MVC, Bone Mineral Density e parametri biochimici è stata testata mediante il coefficiente di correlazione per ranghi di Spearman.

L'analisi di regressione passo passo con l'approccio di eliminazione è stato applicato usando BMI, Ca⁺⁺, fosfato sierico, 25(OH)D, PTH, mio statina e BMD come variabili indipendenti per studiare il loro effetto su MVC. La significatività è stata posta per p-value di 0.05. Per i calcoli statistici è stata utilizzata la versione R package 3.5.0 (R Core Team, 2018).

L'ultrasonografia quantitativa (QUS) delle falangi prossimali è stata eseguita solo nella **fase trasversale**, ottenuta con tecnologia DBM Sonic 1200 device (IGEA, Carpi, Italy); la sonda US veniva applicata a livello della metafisi distale delle ultime 4 dita della mano dell'arto dominante.

I parametri ultrasonografici, che abbiamo considerato, erano la velocità di propagazione degli ultrasuoni, dipendente dall'ampiezza dell'onda ultrasonica, attraverso il tessuto osseo (Amplitude-Dependent Speed of Sound, ADSoS) ed un

ulteriore valore numerico estrapolato, tramite analisi computerizzata di alcuni parametri dinamici, propri del segnale ultrasonografico (Ultrasound Bone Profile Index, UBPI), nonché il T score [36].

La precisione a breve termine dei parametri della QUS è stata calcolata su un campione di soggetti sani, di controllo, misurandoli 5 volte ciascuno. L'accuratezza di misurazione per i singoli parametri era dello 0,63% per l'ADSoS e del 2,1% per l'UBPI.

L'Ultrasonometria Quantitativa è una metodica relativamente recente, non invasiva per lo studio della densità e della struttura dell'osso in vivo. Tale tecnica presenta dei vantaggi quali la sicurezza, la facilità di utilizzo, non comporta l'esposizione del paziente alle radiazioni, lo strumento è trasportabile ed ha un costo relativamente economico, in confronto alle metodiche densitometriche tradizionali (DXA e QCT). Al momento esistono diversi apparecchi per la misurazione della QUS: a livello del calcagno, della tibia e delle falangi. Il DBM Sonic 1200 (IGEA, Carpi, Italia), come spiegato, fornisce i valori di ADSoS attraverso le metafisi distali della falangi prossimali. Vi è un'alta correlazione positiva tra le misurazioni a livello di queste sedi usando la DXA o il DBM Sonic così come tra le misurazioni a livello del rachide o dell'anca ottenute con la DXA e il DBM Sonic. Un'alta percentuale (ca. il 70-80%) dell'ADSoS è spiegato dalla BMD, ma anche da altri fattori, come la struttura e la qualità dell'osso [36,37]. Per una più precisa

misurazione dell'ADSoS, il DBM Sonic 1200 è anche in grado di analizzare la traccia ultrasonografica ed in tal modo fornisce una misura degli elementi strutturali dell'osso trabecolare. Questo indice è chiamato Ultrasound Bone Profile Score (UBPS). Il DBM Sonic 1200 può essere utilizzato nella pratica clinica specialmente per seguire i pazienti con osteoporosi primaria e secondaria, in quanto i cambiamenti nella qualità dell'osso possono avvenire consensualmente ad una riduzione della massa ossea [36,37].

In tutti i soggetti, di entrambi i gruppi, è stato effettuato il dosaggio dei livelli sierici di calcio ionizzato (Ca^{2+}) e paratormone (PTH). Nel gruppo di pazienti con IPP è stato inoltre effettuato il dosaggio della fosforemia (P). Nel gruppo di donne normali e in un sottogruppo di 35 pazienti con IPP sono stati misurati i livelli sierici della 25-idrossivitaminaD [25(OH)D].

Il calcio ionizzato sierico (Ca^{2+}) è stato determinato, usando un elettrodo ione-specifico (Nova 8; Nova Biochemical, Waltham, MA). Range di normalità considerato 1,17-1,33 mmol/L.

Le concentrazioni sieriche totali di vitamina 25(OH)D sono state misurate tramite RIA (Diasorin Inc., Stillwater, MN). Valori normali considerati come > 32 ng/ml. I coefficienti di variazione intra- ed inter-assay (CVs) erano dell' 8.1 e del 10.2%, rispettivamente [38]

I livelli di PTH sierico sono stati rilevati con metodo IRMA (N-tact PTHSP; Diasorin Inc.). I coefficienti di variazione intra- ed inter-assay (CVs) erano 3 e 5.5%, rispettivamente [39]. Range di normalità considerato, 10,6-54 pg/ml.

Nella **fase longitudinale**, un sottogruppo di 30 pazienti con IPP, di cui 15 sottoposte e 15 non sottoposte ad intervento chirurgico, ha accettato di continuare il follow-up ed ha pertanto eseguito nuovamente gli esami precedentemente descritti, escluso QUS falangi. Tutte le pazienti sono state rivalutate a distanza di almeno 12 mesi dall'intervento chirurgico (nel caso delle pazienti operate) o dalla prima osservazione (nel caso delle pazienti non operate).

Nella **tabella 5** sono riassunte le principali caratteristiche antropometriche ed i risultati degli esami biochimici.

Nella **tabella 6** sono presentati i risultati degli esami strumentali eseguiti, nonché la ripartizione tra pazienti non operate, pazienti operate, guarite e persistenti.

Tabella 5

	Pazienti IPP (n=30)
Parametri	
Età (anni)	63,89 ± 7,06
BMI (kg/m²)	25,8 ± 6,2
Calcemia mg/dl	9,95 ± 0,71
Fosforemia mg/dl	3,47 ± 0,58
Ca ++ mmol/l	1,29 ± 0,104
PTH pg/ml	38,5 ± 17,77
25(OH)D ng/ml	31,17 ± 5,8

Tabella 6

	Pazienti IPP (n=30)
Risultati	
BMD 1/3	550,76 ± 62,02
R-BMD tot.	459,4 ± 93,55
MVC (N)	216,89 ± 45,17
N° pazienti operate	13
N° pazienti non operate	17
N° operate guarite	10
N° operate persistenti	3

CAPITOLO 9

Risultati

Le pazienti con Iperparatiroidismo primitivo presentavano valori di MVC significativamente più bassi rispetto alle donne sane ($p < 0.001$, Tabella 1).

Come atteso, i livelli sierici di Ca^{++} ed i livelli di PTH risultavano più alti e la P più bassa nei soggetti con IPP confrontati con i controlli. (Tabella 1). Vi era un'associazione positiva tra MCV e total hip ed aBMD a livello del terzo del radio ($R=0.320$ and 0.370 , $p < 0.05$) ed una associazione negativa con i valori di Ca^{++} ($R=-0.340$, $p < 0.05$) nel gruppo di soggetti affetti da IPP.

Il valore di MVC aveva una correlazione positiva con l'aBMD del terzo distale del radio ($R=0.360$, $p < 0.05$) ed una correlazione negativa con età, BMI e miostatina. ($R=-0.390$, -0.340 and -0.450 , $p < 0.05$) nel gruppo delle donne sane.

I parametri antropometrici ed il livello di attività fisica risultavano omogenei e paragonabili tra i due gruppi.

Il modello lineare che utilizza come covariate BMI, Ca^{++} , fosforo, 25(OH)D, PTH, miostatina e aBMD ha mostrato che l'aBMD del terzo del radio presenta un effetto positivo sull'MVC in pazienti con IPP ($p < 0.02$) e nei soggetti sani ($p < 0.001$). Inoltre, i livelli sierici di PTH e miostatina impattavano negativamente sull'MCV nei soggetti sani. ($p < 0.03$ and $p < 0.01$).

Tabella 1**Media \pm valori di deviazione standard di tutti i parametri nei due gruppi**

Caratteristiche	IPP (n=48)	Soggetti sani (n=38)	p value
Età, anni	60.8 \pm 5.6	58.6 \pm 5.9	NS
Altezza, cm	159 \pm 7.6	157.4 \pm 5.8	NS
Peso, kg	65 \pm 14.3	62.3 \pm 8.7	NS
BMI, kg/m²	25.6 \pm 5.5	25.2 \pm 3.5	NS
Tempo dalla menopausa, anni	12.2 \pm 7.3	9.6 \pm 5.8	NS
Calcio Ionizzato sierico, nmol/L (vn 1.17-1.33)	1.42 \pm 0.08	1.25 \pm 0.04	<0.0001
Fosforo sierico, mg/dL (vn 2.5-4.5)	2.8 \pm 0.4	4 \pm 0.4	<0.03
PTH sierico, pg/mL (vn 15.5 – 65.5)	90.7 \pm 51	40 \pm 12.8	<0.0001
25(OH)D sierica, ng/mL	22 \pm 9.4	21 \pm 11.7	NS
Miostatina sierica, ng/mL	61.7 \pm 43.6	49 \pm 14.2	NS

<i>L1-L4 aBMD, g/m2</i>	0.794 ± 0.169	0.877 ± 0.123	
T-score	-2.2 ± 1.2	-1.6 ± 1.2	<0.03
<i>Collo del femore aBMD, g/m2</i>	0.650 ± 0.104	0.692 ± 0.100	
T-score	-1.9 ± 0.9	-1.4 ± 1	0.05
<i>Total Hip aBMD, g/m2</i>	0.741 ± 0.111	0.828 ± 0.103	
T-score	-1.6 ± 0.8	-1 ± 0.8	<0.01
<i>Un terzo radiale aBMD, g/m2</i>	0.559 ± 0.705	0.632 ± 0.626	
T-score	-2.3 ± 1.2	-1 ± 1	<0.0001
MVC, Newton	183.5 ± 61.3	234 ± 56.3	<0.001

Nello **studio trasversale**, i valori di MVC risultavano significativamente più bassi nelle pazienti affette da IPP, rispetto al gruppo dei controlli sani (186.78±57.46 N vs 233.98±57.11, rispettivamente, p<0.001) (**Figura 11**). Abbiamo trovato una correlazione positiva statisticamente significativa tra MVC e R-BMD nel gruppo delle pazienti (r=0.405, p < 0.01) (**Figura 12**) e nel gruppo dei controlli sani (r=0.403, p<0.05) (**Figura 13**) ed, inoltre, una correlazione negativa tra i livelli sierici di calcio ionizzato ed i valori di MVC nelle donne affette (r=0.32, p<0.05) (**Figura 14**). Non sono state riscontrate correlazioni significative tra MVC ed i

parametri ultrasonometrici, in entrambi i gruppi, nè con le concentrazioni plasmatiche di fosforo, in entrambi i gruppi in esame.

I risultati erano confermati dopo aggiustamento per i valori di BMI e livelli sierici di 25(OH)D, ($p < 0.05$).

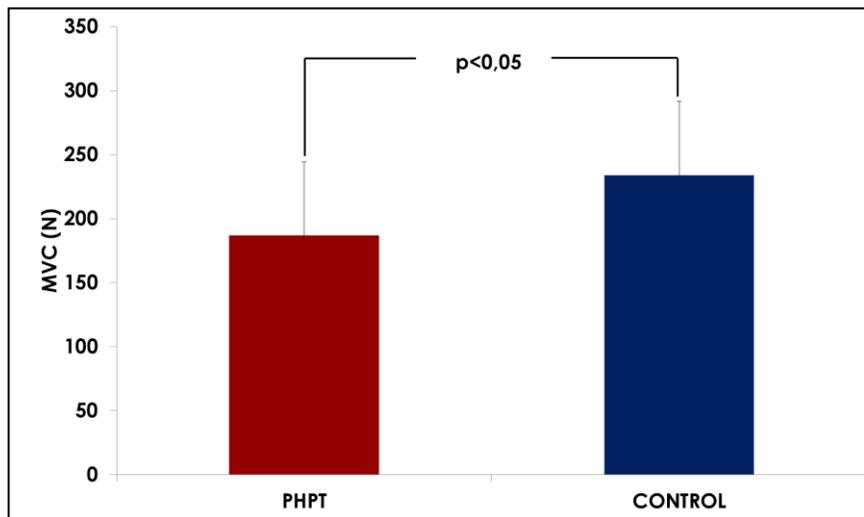


Fig.11 Valori di MVC in pazienti IPP e nel gruppo di controllo

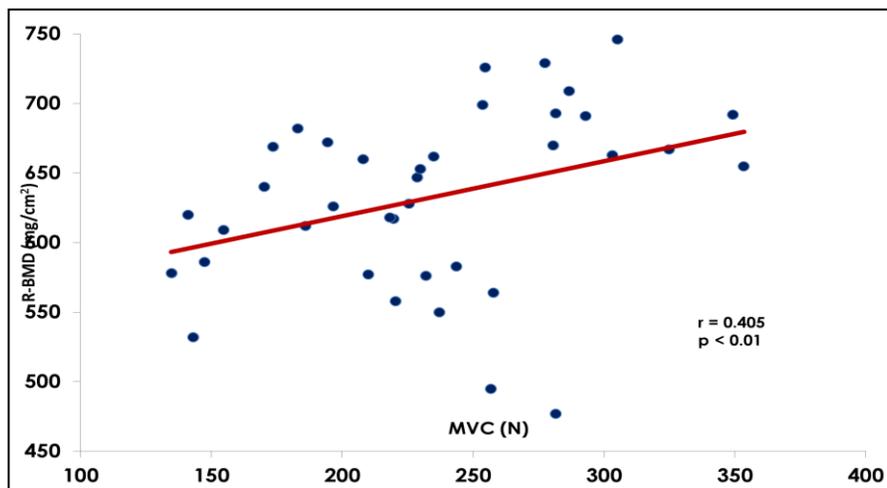


Fig.12 Correlazione tra R-BMD e MVC nelle pazienti IPP

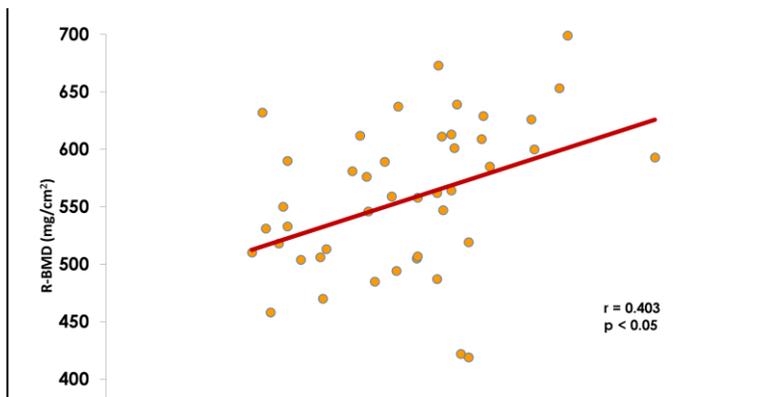


Fig.13 Correlazione tra R-BMD e MVC nel gruppo di controllo

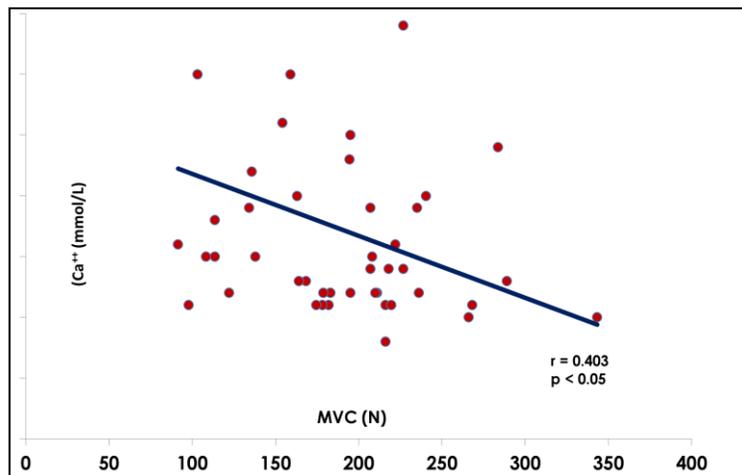


Fig.14 Correlazione tra MVC e Ca²⁺ nelle pazienti IPP

Nella **seconda fase** del nostro studio, abbiamo potuto osservare un lieve aumento nei valori di MVC tra il *baseline* (186.78 ± 57.46 N) e quelli ottenuti dalle pazienti

rivalutate nel post-paratiroidectomia (n=13) ($202,26 \pm 43,45$ N); tuttavia tali variazioni di MVC non raggiungevano la soglia della significatività statistica (**Figura 15**).

Invece, non abbiamo osservato nessuna differenza statisticamente significativa tra i valori di MVC al *baseline* e quelli ottenuti nel follow up nel gruppo di pazienti con PHPT non operate (n=17) (**Figura 16**).

Non sono state rilevate correlazioni tra MVC e gli altri parametri biochimici o con la R-BMD, aggiustati per Età e BMI. Tra le nostre pazienti non abbiamo riscontrato deficit sierico di vitamina D.

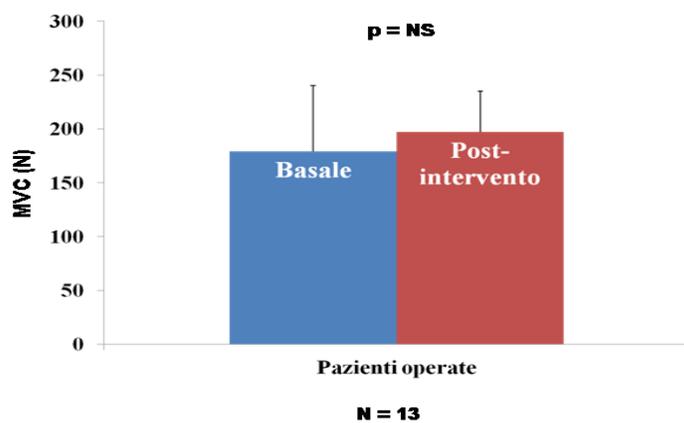


Figura 15 Valori di MVC nelle pazienti con PHPT prima e dopo intervento chirurgico

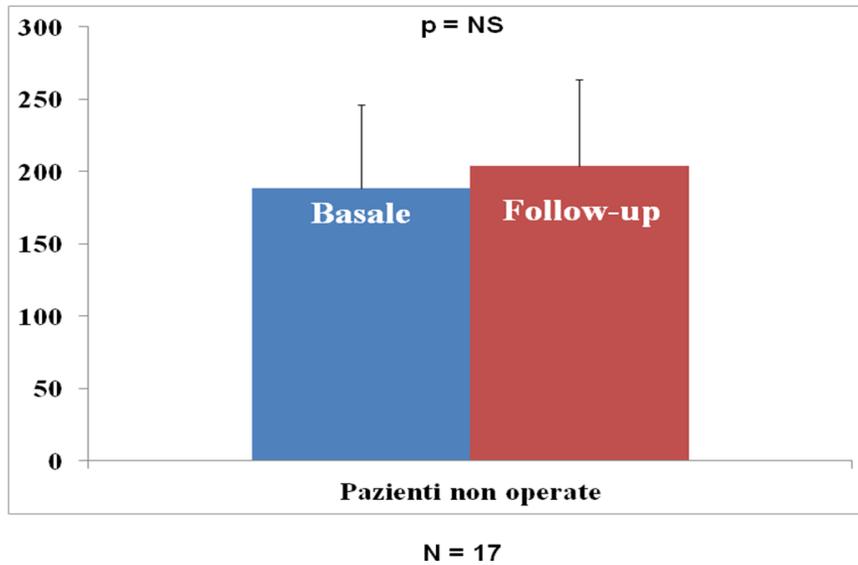


Figura 16 Valori di MVC al basale e nel follow up nelle pazienti con PHPT non sottoposte ad intervento chirurgico

Infine, la Figura 17 mostra come vi sia una tendenza, seppur non statisticamente significativa, al miglioramento della forza muscolare nei primi 12-18 mesi dall'intervento, che si riduce nei mesi successivi (18-24).

Tuttavia, come già precedentemente affermato la fase longitudinale è ancora in fase di svolgimento e quindi, di maggiore definizione, non avendo, al momento, a disposizione, un campione sufficientemente ampio di pazienti operate.

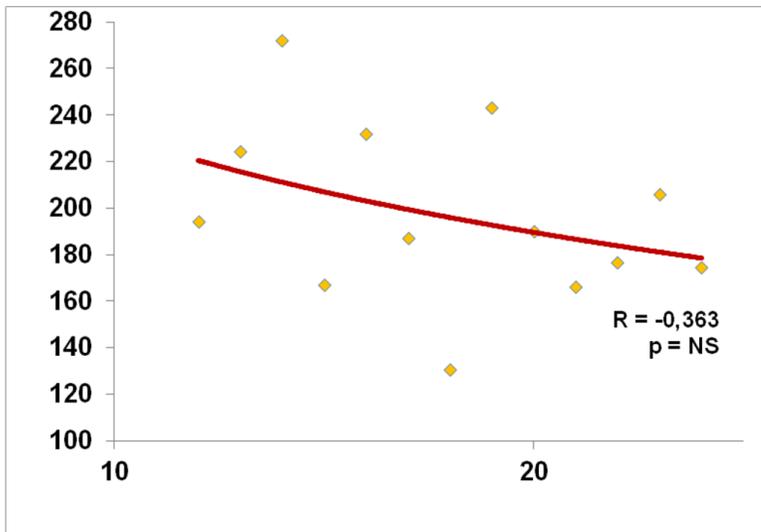


Figura 17 Andamento della forza muscolare nelle pazienti sottoposte ad intervento chirurgico in relazione ai mesi dall'intervento

CAPITOLO 10

Discussione

L'Iperparatiroidismo Primario è una malattia attualmente di frequente riscontro nella pratica clinica e per tale motivo, le nostre conoscenze a riguardo stanno assumendo sempre maggior rilievo. È importante sottolineare come la sua presentazione clinica sia radicalmente mutata negli ultimi decenni; infatti, le forme sintomatiche, con la tipica compromissione ossea e renale (nefro-urolitiasi, lesioni ossee radiologicamente evidenti, quali l'osteite fibroso cistica), costituiscono la minoranza delle nuove diagnosi. L'emergere delle forme asintomatiche o cosiddette *mild*, tuttavia, non significa assenza completa di manifestazioni a livello osseo, in quanto si possono osservare diversi gradi di deficit di massa ossea, rilevabili tramite le più avanzate tecniche densitometriche (DEXA), o assenza di coinvolgimento di altri apparati. La questione che si rende necessario focalizzare è la comprensione dei meccanismi fisiopatologici alla base di quelle che sono denominate "manifestazioni non classiche" o "atipiche", prevalentemente extra-scheletriche, nell'ambito dell'IPP asintomatico [11,12,13, 40].

In particolare, gli studi negli ultimi anni si sono concentrati sugli aspetti coinvolgenti la componente muscolare o meglio osteo-neuro-muscolare.

Il *background* culturale si può far risalire agli anni '70, quando già si cominciava ad osservare una tipica sindrome neuromuscolare, associata all'IPP, classicamente intesa, caratterizzata da debolezza dei cingoli e muscoli prossimali ed atrofia delle fibre muscolari di tipo II [33]. Tale rilievo non era esteso però ai soggetti asintomatici.

La percezione soggettiva di debolezza è stata valutata in uno studio osservazionale di 42 pazienti con IPP mild. Sebbene astenia generalizzata e facile faticabilità fossero sintomi lamentati da questi pazienti, non sussistevano riscontri obiettivi di atrofia muscolare, iperreflessia, alterazioni dell'equilibrio e del passo, fascicolazioni (p.es. della lingua), o significativi cambiamenti nello status cognitivo indagato tramite esami neurologici [40].

Nonostante i dati in letteratura riguardo alla presenza di miopatia e riduzione della forza muscolare nell'IPP siano spesso discordanti, è indubbio che a tale malattia endocrina si associ una compromissione delle performance fisiche, soprattutto nella fascia di età più avanzata.

Studi precedenti hanno dimostrato come la progressiva riduzione della forza muscolare [32] sia strettamente correlata all'età, che si può a tutti gli effetti considerare un fattore indipendente nella determinazione di questo *trend*, dal momento che tale riduzione di forza si può osservare anche quando i dati di MVC, rilevati mediante *handgrip strenght measure*, vengono corretti per BMI e

concentrazioni sieriche di vitamina D. Il declino della forza muscolare può essere ascritto alla già nota perdita di massa magra (perdita di massa, nonché qualità del muscolo), conosciuta come *sarcopenia* dell'anziano. Infatti, la sarcopenia è una caratteristica frequente, basti pensare che la prevalenza varia dal 13 al 24% negli over 60 e arriva a superare il 50% negli over 80 [32].

Tra gli altri fattori che giocano un ruolo fondamentale sulla forza muscolare, non possiamo non indicare l'assetto ormonale-gonadale [32,41] e lo status vitaminico D [42].

A tal proposito, è un dato ormai da tempo acquisito che tra i reperti biochimici dell'iperparatiroidismo primario si realizzi un deficit relativo di vitamina D, dovuto all'iper-attivazione dell'*α-idrossilasi renale*, al conseguente aumento della conversione della forma 25(OH)D in 1-25(OH)D e ad un aumento del suo catabolismo.

È inoltre a questo punto interessante notare il *link* tra vitamina D, calcio intracellulare ed extracellulare (sottoforma di Ca^{2+}) e funzione muscolare.

È noto infatti che la vitamina D, potenzia l'influsso di calcio nelle cellule muscolari, esplicando effetti sia diretti che indiretti sul muscolo stesso (teoria dello scorrimento dei filamenti di acto-miosina) (Figura 17) [43,44].

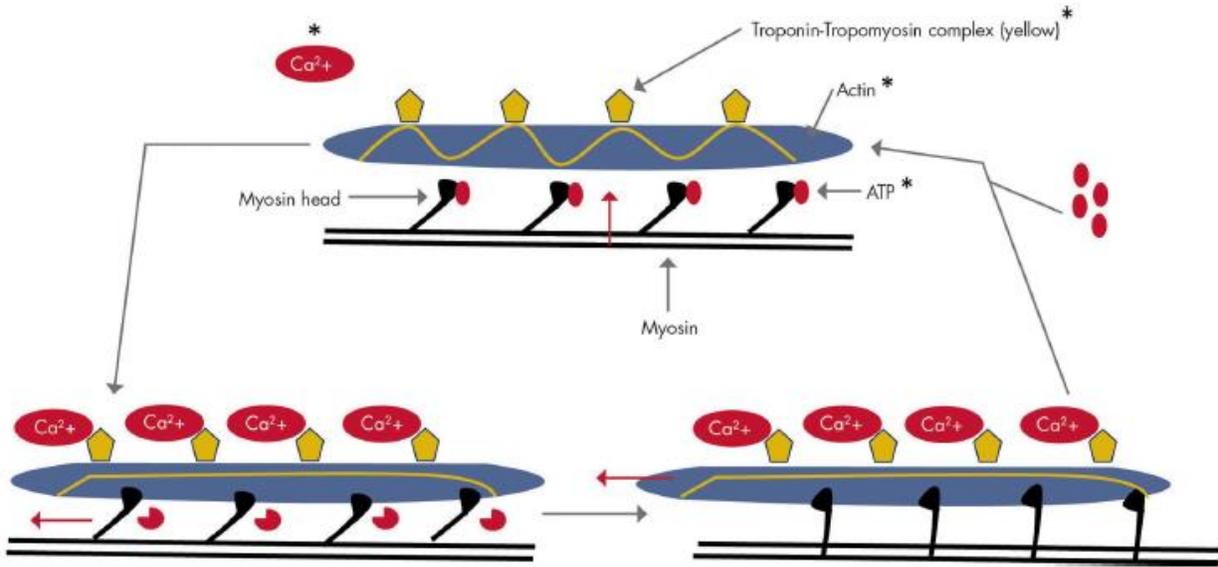


Figura 18 Ruolo potenziale del calcio nello scorrimento dei filamenti di actina-miosina nella contrazione muscolare (43)

Il correlato clinico di questo modello è l'effetto negativo di bassi livelli sierici di vitamina D sul rischio di cadute, prevalentemente nell'anziano e sulla forza muscolare, nell'anziano, ma anche su fasce di popolazioni giovani.

Questi due punti molto consistenti della vasta discussione sui fattori influenzanti la forza muscolare, possono essere chiarificati ad un'attenta analisi degli studi disponibili finora [43].

Per quanto riguarda il primo punto, Bischoff et al. in una metanalisi del 2009, prendevano in considerazione i dati di otto trial randomizzati controllati in doppio cieco (n=2426) fino al 2008, in cui a soggetti con età media 65 anni, veniva somministrata una supplementazione di vitamina D (D2 o D3) o vitamina D in

forma attiva e che venivano studiati tramite specifici test per il rischio di cadute. I loro risultati hanno mostrato che supplementazioni a dosaggi di 700-100 UI/die riducevano il rischio cadute del 19% in soggetti anziani e che concentrazioni sieriche di vitamina D pari a 30 ng/ml sarebbero necessarie per ridurre significativamente tale rischio [44].

Il secondo punto è ben elucidato da un nostro studio, prospettico, d'intervento, in cui abbiamo valutato se e come una singola dose di Colecalciferolo 600.000 UI/die, somministrata a giovani donne (n=18), sane, ma con deficit di vitamina D, potesse influenzare non solo le concentrazioni sieriche di alcuni parametri biochimici, importanti per il metabolismo osseo, ma anche la **forza muscolare**, in quanto, proprio quest'ultimo aspetto, era stato indagato in un numero ancora limitato di studi. Inoltre, un altro dato innovativo, rispetto ai precedenti studi, è stata la valutazione dell'*handgrip strenght*, mediante dinamometro manuale, quale misura della forza muscolare, strettamente correlata alla forza degli arti inferiori e pertanto, indice affidabile della forza globale dell'individuo.

Non venivano trovate correlazioni significative tra i parametri biochimici 25(OH)D, 1-25(OH)D, Ca²⁺, PTH e la forza muscolare in tutto il periodo di osservazione [45].

Nonostante l'esito negativo dei risultati, l'importanza di questo studio risiede nel fatto che non solo ha avuto l'intuizione di introdurre una metodica ancora poco

utilizzata in ambito scientifico per la valutazione della forza muscolare, ma anche perché ha fatto intravedere la possibilità di percorrere una nuova strada nell'ambito delle malattie metaboliche dell'osso e dello status muscolare, con possibili e importanti implicazioni in ambito di linee guida.

Direttamente da questi presupposti e dalla nostra quotidiana esperienza ambulatoriale con numerosi soggetti affetti da iperparatiroidismo primario, più specificatamente donne in età postmenopausale, è stato concepito il disegno di questo studio, con lo scopo di indagare quali potessero essere i fattori maggiormente coinvolti nel mantenimento di una buona performance muscolare o al contrario implicati in un loro deterioramento, in un gruppo di donne con IPP. A tal fine abbiamo sottoposto le donne arruolate a due fasi dello studio, **trasversale** (pazienti affette e controlli sani di pari età e simili caratteristiche antropometriche) e **longitudinale** (solo pazienti affette, come controllo a distanza dalla paratiroidectomia o come semplice follow up nelle non operate). Queste due fasi si sono rese necessarie per stabilire correlazioni tra i parametri al *baseline* e per valutare, in un secondo tempo, gli effetti della paratiroidectomia sulle stesse variabili.

I risultati raggiunti nella prima fase dello studio, trasversale, mostrano che, nelle donne in età post-menopausale, affette da IPP, si realizza, effettivamente, una riduzione significativa della forza nei distretti muscolari distali degli arti superiori

(arto dominante), se confrontate con un gruppo di controllo di donne sane, di pari età e con caratteristiche antropometriche comparabili ed omogenee.

In questo contesto, sia l'ipercalcemia, e specificatamente i livelli di calcio ionizzato nel siero, sia la R-BMD, si rivelano essere i fattori che, a parità di età, BMI e status vitaminico D, influenzano nel modo più consistente la forza muscolare.

L'influenza dei parametri densitometrici sulla forza muscolare concorda con quanto noto in letteratura, così come con i nostri risultati, osservati in un ampio gruppo di soggetti sani, che hanno mostrato una correlazione significativa tra parametri quantitativi e qualitativi dell'osso e forza muscolare [32]. È noto infatti che la massa e forza muscolare sono in grado di influenzare la struttura scheletrica, sia quantitativamente (in termini, dunque, di densità minerale ossea) che qualitativamente (in termini, dunque, di forza dell'osso) in modo sito-specifico. Il nostro lavoro ha dunque confermato, per la prima volta, che tale meccanismo è presente anche in donne con IPP, in cui i fattori muscolari e scheletrici si potrebbero influenzare vicendevolmente. La compromissione scheletrica potrebbe inoltre essere uno dei fattori che influenzano la riduzione della forza muscolare da noi osservata, rispetto a donne sane di pari età.

Non vi sono invece influenze determinanti da parte dei valori ultrasonometrici e degli altri parametri biochimici misurati.

Nella seconda fase dello studio, abbiamo rilevato un lieve incremento del principale parametro della forza isometrica di contrazione dell'arto superiore dominante (MVC) delle pazienti operate rispetto ai valori baseline, ma non abbiamo trovato le correlazioni attese tra MVC e i diversi parametri misurati, nelle stesse pazienti, sottoposte a paratiroidectomia, osservate a circa 12 mesi dall'intervento e considerate guarite dal punto di vista biochimico. Tale risultato sarebbe, a nostro avviso, maggiormente ascrivibile, all'esiguità numerica del campione che abbiamo potuto ritestare in questo *setting*. Pertanto per poter giungere a conclusioni più esaustive riguardo all'andamento della forza muscolare nel post-paratiroidectomia, stiamo continuando ad ampliare il nostro gruppo di pazienti. Inoltre, i nostri risultati hanno dimostrato una tendenza, seppur non statisticamente significativa, all'incremento della forza muscolare nel gruppo di pazienti guarite nei primi 12-18 mesi dall'intervento (Figura 17). Tale dato, che necessita conferma tramite ampliamento del campione studiato, sembrerebbe pertanto dimostrare che il miglioramento della performance muscolare potrebbe avvenire rapidamente, in associazione con una riduzione dei livelli sierici di calcio. Ulteriori studi saranno, pertanto, necessari per poter determinare a quanto tempo di distanza dall'intervento è possibile rilevare effetti quantificabili sulla forza muscolare ed il ruolo "giocato" su di essa dalla riduzione dei livelli sierici di PTH e calcio ionizzato.

I risultati del nostro studio dimostrano come esista una compromissione significativa della forza muscolare in donne in postmenopausa con iperparatiroidismo primitivo rispetto a donne sane di pari età'. Il fattore che principalmente influenza la forza muscolare sembra essere legato alla densità minerale ossea misurata a livello della regione scheletrica dove viene effettuata la valutazione della forza muscolare, ovvero l'arto superiore dominante. Tale dato è stato riscontrato sia nelle donne affette da IPP che nel gruppo di donne sane, a conferma di quanto già riportato in letteratura dal nostro e altri gruppi. È noto come la massa e la forza muscolare abbiano un effetto determinante sulla struttura scheletrica, sia in termini di densità minerale ossea, che di *bone quality*. In particolare, questo effetto viene esplicitato in modo sito-specifico. Il nostro lavoro ha dunque dimostrato, per la prima volta, come tale meccanismo sia determinante sia nelle donne sane che nelle donne con IPP, in cui i fattori muscolari e scheletrici si potrebbero influenzare vicendevolmente. La compromissione scheletrica potrebbe infatti essere uno dei fattori che influenzano la riduzione della forza muscolare da noi osservata, rispetto a donne sane di pari età.

In termini di meccanismi coinvolti nella compromissione muscolare nelle pazienti con IPP, ruolo determinante sembra essere quello dei livelli sierici di Ca^{++} . L'ipercalcemia rappresenta, infatti, a parità di tutti gli altri fattori studiati, il parametro che maggiormente influenza la forza muscolare in queste pazienti.

Non vi sono invece influenze determinanti sulla forza muscolare da parte degli altri parametri del metabolismo calcio-fosforo, né della miostatina. A differenza di quanto riportato nei soggetti sani, dunque, il ruolo di tale proteina, coinvolta nell'inibizione della differenziazione e crescita del muscolo scheletrico, è praticamente assente nell'ambito della miopatia dei pazienti con IPP. In tale gruppo di pazienti, non abbiamo riscontrato alcuna correlazione significativa tra i livelli sierici di miostatina e i livelli di calcemia. Ciò suggerisce che l'ipercalcemia cronica non agisce a livello muscolare tramite meccanismi che coinvolgono l'espressione di miochine, ma unicamente attraverso un meccanismo diretto. Una possibile ipotesi patogenetica si potrebbe far risalire al noto effetto che il calcio ha fisiologicamente sulle fibre muscolari. In particolare, l'afflusso di calcio dal reticolo sarcoplasmatico verso i filamenti di actina/miosina delle fibre muscolari risulta fondamentale per favorire lo scorrimento di filamenti stessi. Il calcio si lega infatti al complesso troponina-tropomiosina, esponendo siti attivi di legame sui filamenti di actina dove si va a legare la miosina. La presenza di livelli sierici cronicamente elevati di calcio potrebbe pertanto perturbare questo fine equilibrio nel distretto muscolare scheletrico e alterare pertanto il meccanismo di contrazione muscolare.

Nello studio longitudinale, abbiamo rilevato un lieve incremento della forza muscolare nelle pazienti sottoposte a paratiroidectomia dopo circa 12 mesi dall'intervento e considerate guarite dal punto di vista biochimico rispetto ai valori baseline, ma non abbiamo trovato le correlazioni tra MVC e i diversi parametri misurati. Tale risultato sarebbe, a nostro avviso, maggiormente ascrivibile, all'esiguità numerica del campione che abbiamo potuto ritestare in questo *setting*. Pertanto per poter giungere a conclusioni più esaustive riguardo all'andamento della forza muscolare nel post-paratiroidectomia, stiamo continuando ad ampliare il nostro gruppo di pazienti. Inoltre, i nostri risultati hanno dimostrato una tendenza, seppur non statisticamente significativa, all'incremento della forza muscolare nel gruppo di pazienti guarite nei primi 12-18 mesi dall'intervento (Figura 17). Tale dato, che necessita conferma tramite ampliamento del campione studiato, sembrerebbe dimostrare che il miglioramento della performance muscolare potrebbe avvenire rapidamente, in associazione con una riduzione dei livelli sierici di calcio. Ulteriori studi saranno, pertanto, necessari per poter determinare a quanto tempo di distanza dall'intervento è possibile rilevare effetti quantificabili sulla forza muscolare ed il ruolo "giocato" su di essa dalla riduzione dei livelli sierici di PTH e calcio ionizzato.

Conclusioni

I nostri risultati dimostrano che esiste una riduzione della forza muscolare nelle donne in postmenopausa con iperparatiroidismo primitivo. La forza muscolare e i parametri densitometrici sono strettamente correlati e si influenzano vicendevolmente. L'ipercalcemia sembra rappresentare il principale fattore patogenetico implicato nella compromissione muscolare nelle pazienti con IPP. La valutazione del ruolo fisiopatologico dei livelli sierici di calcemia, soprattutto tramite studio delle pazienti sottoposte ad intervento chirurgico in cui vi è stata una normalizzazione dei livelli sierici di calcio rappresentano oggetti di studio per il futuro.

Bibliografia

- 1) Bilezikian J.P. Primary Hyperparathyroidism. *Endocr Pract* 2012, 18: 781-790
- 2) MacKenzie-Feder J., Sirrs S., Anderson D., Sharif J., Khan A. Primary Hyperparathyroidism: An Overview. *Int J of Endocrinol*. Apr 2011, ID 251410.
- 3) Marcocci C., Cetani F. Primary Hyperparathyroidism. *N Engl J Med* 2011; 365: 2389-97.
- 4) Bilezikian J.P., Marcus R., Levin M.A. Physiology of calcium homeostasis. The parathyroids: basic and clinical concepts, San Diego, Academ. Press., 2001, pag. 167
- 5) Goltzman P., Hendy G.N. Effects of calcium and of the vitamin D system on skeletal and calcium homeostasis: lessons from genetic models. *J Steroid Biochem Med. Biol.* 2004, 89-90: 485.
- 6) Rached MT, Kode A, Silva BC, Jung DY, Gray S, Ong H, Paik JH, DePinho RA, Kim JK, Karsenty G, Kousteni S. FoxO1 expression in osteoblasts regulates glucose homeostasis through regulation of osteocalcin in mice. *J Clin Invest.* 2010 Jan;120(1):357-68.
- 7) Kerschman, Schindl K., Bone turnover in Hyperparathyroidism. *Wien Med Wochenschr* Jul 18, 2012: 18-20, 1090.

- 8) Khosla, S. Increasing Options for the treatment of Osteoporosis. *N Engl J Med.* 2009 Aug 20;361(8):818-20.)
- 9) Inaam A. N., Lang R., Kinder B., Insogna K.L. The Role of the Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand/Osteoprotegerin Cytokine System in Primary Hyperparathyroidism. *End Res* March 2008, 93 (3): 967.
- 10) Piedra M., García-Unzueta M.T., Berja A., Paule B., Lavín B.A., Valero C., Amado A.J., Single nucleotide polymorphisms of the OPG/RANKL system genes in primary hyperparathyroidism and their relationship with bone mineral density. *BMC Med Gen*, 2011, 12: 168.
- 11) Silverberg S.J., Lewiecki E.M., Mosekilde L., Peacock M., Rubin M.R. Presentation of Asymptomatic Primary Hyperparathyroidism: Proceedings of the Third International Workshop. *J Clin Endocrinol Metab*, February 2009, 94(2):351–365
- 12) Borretta G., Gianotti L., Cesario F., Borretta V., Tassone F., Iperparatiroidismo e rene. *G Ital Nefrol* 2010; 27 (S50): S91-S95
- 13) Khan AA, Bilezikian JP, Potts JT Jr, The Diagnosis and Management of Asymptomatic Primary Hyperparathyroidism Revisited. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:333-334.
- 14) Dempster DW, Müller R, Zhou H, Kohler T, Shane E, Parisien M, Silverberg SJ, Bilezikian JP: Preserved three-dimensional cancellous bone structure in mild

primary hyperparathyroidism. *Bone* 2007;41:19-24.

15) Khosla S., Melton L.J. III, Wermers R.A., Crowson C.S., O'Fallon W.M., Riggs B.L. Primary hyperparathyroidism and the risk of fracture: a population based study. *J Bone Min Res* 1999; 14: 1700-1707

16) Vignali E., Viccica G., Diacinti D., Cetani F., Cianferotti L., Ambrogini E., Bilezikian J.P. Marocci C. Morphometric vertebral fractures in postmenopausal women with primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2009, 94:2306-2312.

17) Lewiecki EM, Miller PD. Skeletal effects of primary hyperparathyroidism: bone mineral density and fracture risk. *J Clin Densitom.* 2013 Jan-Mar;16 (1): 28-32.

18) Sankaran S., Gamble G., Bolland M., Reid I.R., Grey A. Skeletal effects of interventions in mild primary hyperparathyroidism: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* Apr, 2010, 85(4): 1652-62.

19) Bilezikian J.P., Khan A.A., Potts, J.T.. on behalf of the Third International Workshop on the Management of Asymptomatic Primary Hyperthyroidism, Guidelines for the Management of Asymptomatic Primary Hyperparathyroidism: Summary Statement from the Third International Workshop. *J Clin Endocrinol Metab*, February 2009, 94 (2):335–339.

20) Reppe S., Stilgren L., Abrahamsen B., Olstad OK, Brixen K., Abnormal muscle

and hematopoietic gene expression may be important for clinical morbidity in primary hyperparathyroidism. *Am j Physiol. Endocrinol. Metab.* 292: E1465-E1473, 2007.

21) Silverberg S.J., Walker M.D., Bilezikian J.P. Asymptomatic Primary Hyperparathyroidism. *J Clin Dens Assess of Skel Health* 2013, vol. 16, no.1, 14-21.

22) Bilezikian J.p., Silverberg S.J., Normocalcemic primary hyperparathyroidism. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2010 (54): 106-109.

23) Lowe H., Mc Mahon D.J., Rubin M.R., Bilezikian J.P., Silverberg S.J. Normocalcemic primary hyperparathyroidism: further characterisation of a new clinical phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 2007, 92: 3001-5.

24) Soren R. deutch, M.D., Martin B. Jensen, M.D., Ph.D., Peer M. Christiansen, M.D., Ib Hessev, Muscular Performance and Fatigue in Primary Hyperparathyroidism. *World J Surg* 24, 102-107,2000.

25) Aggarwal A. Handgrip Maximal Voluntary Isometric Contraction Does Not Correlate with Thenar Motor Unit Number Estimation. *Neurology Research International.* Vol. 2012, Article ID 187947, 5 pagg.

26) Udelsman R, Pasiaka JL, Sturgeon C, Young JEM, Clark OH. Surgery for Asymptomatic Primary Hyperparathyroidism: Proceedings of the Third International Workshop. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:366-372.

27) Rosen CJ. Clinical Practice. Vitamin D insufficiency. *N Eng J Med*

2011;364:248-254.

28) Amstrup A.K., Rejnmark L., Vestergaard P, Sikjaer T., Rolighed L., Heickendorff L., Mosekilde L., Vitamin D status, physical performance and body mass in patients surgically cured for primary hyperparathyroidism compared with healthy controls - a cross-sectional study. *Clinical Endocrinology* (2011) 74, 130–136

29) Body JJ. Primary Hyperparathyroidism: diagnosis and management. *Rev Med Brux.* 2012 Sep;33(4):263-7.

30) Fraser D. Hyperparathyroidism. *The Lancet* July 2009, Vol 374, 145-158.

31) Khan a., Grey A., Shaback D. Medical Management of Asymptomatic Primary Hyperparathyroidism: proceedings of the third international workshop. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(2), 373-8.

32) Cipriani C., Romagnoli E., Carnevale V., Raso I., Scarpiello A., Angelozzi M., Tancredi A., Russo S., De Lucia F., Pepe J., Minisola S. Muscle strength and bone in healthy women: effect of age and gonadal status. *Hormones*, 2012, 11(3):325-332

33) Patten B.M., Bileziakian J.P., Mallette L.E., Engel W.K., Auerbach G.D., Neuromuscular Disease in Primary Hyperparathyroidism. *Ann Intern Med.* 1 Feb. 1974;80(2):182-193.

34) Rikkonen T., Sirola J., Salovaara K., Tuppurainen M., Jurvelin J.S., Honkanen

R., Kroger H. Muscle Strength and Body Composition Are Clinical Indicators of Osteoporosis. *Calcif Tissue Int* (2012) 91: 131-138.

35) Di Monaco M., Di Monaco R., Manca m., Cavanna A., Handgrip strength is an independent predictor factor of distal radius bone mineral density in postmenopausal women. *Clin Rheumatol* 19: 473-476.

36) Cipriani C., Romagnoli E., Scarpiello A., Angelozzi M., Montesano T., Minisola S. Phalangeal Quantitative Ultrasound and bone Mineral Density in Evaluating Cortical Bone loss. A Study in Postmenopausal Women With Primary Hyperparathyroidism and Subclinical Iatrogenic Hyperthyroidism. *J Clin Dens Assess of Skel Health*, vol. 12, no. 4, 456-460, 2009.

37) Krieg M.A., Barkmann R., Gonnelli S. et al. Quantitative Ultrasound in the management of osteoporosis: the 2007 ISCD official position. *J Clin Densitom* 11: 163-187.

38) Cipriani C, Romagnoli E, Scillitani A, Chiodini I, Clerico R, Carnevale V, Mascia ML, Battista C, Viti R, Pileri M, Eller-Vainicher C, Minisola S, Effect of a single oral dose of 600,000 IU of cholecalciferol on serum calciotropic hormones in young subjects with vitamin D deficiency: a prospective intervention study". *J Clin Endocrinol Metab* 2010, 95:4771-4777.

39) Carnevale V, Dionisi S, Nofroni I, Romagnoli E, Paglia F, De Geronimo S, Pepe J, Clemente G, Tonnarini G, Minisola S 2004 "Potential clinical utility of a

new IRMA for parathyroid hormone in postmenopausal patients with primary hyperparathyroidism”, Clin Chem 50:626-631.

40) Silverberg S.J., Walker M.D., Bilezikian J.P. Asymptomatic Primary Hyperparathyroidism. J Clin Dens Assess of Skel Health 2013, vol. 16, no.1, 14-21.

41) Cruz-Jentoft A.J., Baeyens J.P., Bauer J.M. et al. European Working Group on Sarcopenia in Older People. Sarcopenia European Consensus on definition and diagnosis, Age Ageing 2010, (39) 412-423.

42) Gallagher J.C. Vitamin D Deficiency and Muscle Strength: Are They Related? J Clin Endocrinol Metab, Dec. 2012, 97 (12): 4366-4369.

43) Girgis C.M., Roderick J. Clifton-Bligh, Mark W. Hamrick, Michael F. Holick, Jenny E. Gunton. The roles of Vitamin D in Skeletal Muscle: Form, Function, and Metabolism. End Rev, Feb. 2013, 34(1).

44) Bischoff-Ferrari H. A., Dawson-Hughes B., Staehelin H.B., Orav J.E., Stuck A.E., Theiler R., Wong J.B., Kiel D.P., Henschkowski J. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials. BMJ 2009;339:b3692

45) Cipriani C., Romagnoli E., Carnevale V., Clerico r., Pepe J., Cilli M., Diacinti D., Minisola S. Effect of a single dose of 600,000 UI of Colecalciferol on muscle strength: a study in young women. *Submitted.*

