



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI VERONA

DIPARTIMENTO DI
MEDICINA

DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE MEDICHE CLINICHE E SPERIMENTALI
CICLO XXIII

**EFFETTI A LUNGO TERMINE DEL TRATTAMENTO CON BISFOSFONATI
NELL'IPERPARATIROIDISMO PRIMARIO**

S.S.D. MED/16

Coordinatore: Prof. Enzo Bonora

Tutor: Prof. Silvano Adami

Dottoranda: Dott.ssa Joumana Bakri

INDICE

ABBREVIAZIONI	pag. 3
ABSTRACT	pag. 4
INTRODUZIONE	pag. 5
PAZIENTI E METODI	pag. 12
- Pazienti	pag. 12
- Disegno dello studio	pag. 13
- Metodi	pag. 13
- Analisi statistica	pag. 14
RISULTATI	pag. 14
DISCUSSIONE	pag. 16
CONCLUSIONE	pag. 19
BIBLIOGRAFIA	pag. 26

ABBREVIAZIONI

BMD	Bone Mineral Density
DEXA	Dual-Energy X-ray Absorptiometry
HRT	Hormone Replacement Therapy
IL-6	Interleuchina 6
IPTP	Iperparatiroidismo primitivo
NIH	National Institute of Health
PTH	Parathyroid Hormone
s-CTX	C-Telopeptide collagene tipo I sierico
TNF	Tumor Necrosis Factor

Abstract Submission to the 3rd Joint Meeting of ECTS & IBMS *Other diseases of bone and mineral metabolism*

ECTS/IBMS11-ABS-1557

LONG-TERM CONSEQUENCES OF A TREATMENT COURSE WITH BISPHOSPHONATES IN PRIMARY HYPERPARATHYROIDISM

J. Bakri 1,* , L. Idolazzi 1, O. Viapiana 1, E. Fracassi 1, B. Kalpakcioglu 1, R. Dhangana 1, A. Mattarei 1, V. Braga 1, D. Gatti 1, M. Rossini 1, S. Adami 1

1Rheumatology Unit, UNIVERSITY OF VERONA, verona, Italy

Abstract: In patients with primary hyperparathyroidism (PHPT) not suitable for surgical correction a skeletal protection with bisphosphonates is considered a reasonable option, but the longterm effects after treatment discontinuation are not well known.

Sixty postmenopausal women with PHPT were given 400-600 IU vitamin D3 daily and 100 mg neridronate I.V. every two months for 2 years with 2 additional years of follow-up without anti-resorptive therapies. Bone mineral density (BMD) progressively rose by $6,6 \pm 7,6\%$ (SD) and by $2,9 \pm 4,5\%$ at the spine and femoral neck, respectively. During follow-up mean BMD progressively fell, but after 2 years it was still $+3,9 \pm 5,5\%$ higher than baseline values at the spine. Bone alkaline phosphatase and serum C-Telopeptide of type-I-collagen decreased significantly within 6 months (28 and 49% versus baseline, respectively) and rose to baseline values within 6-12 months during follow-up. Serum PTH significantly rose from baseline during treatment, but it remained significantly higher than baseline during follow-up. The PTH changes were significantly correlated with serum 25-hydroxy-vitamin-D (25OHD) levels.

In conclusion, in this study we observed that in patients with mild PHPT treatment with bisphosphonates is associated with the expected changes in bone turnover markers and that the significant increases of both hip and spine BMD are partially maintained for at least 2 years after treatment discontinuation at the vertebral site. The marked increases in serum PTH levels, particularly in subjects with low 25OHD levels, persist after treatment discontinuation, and this raises the suspicion that this might reflect a worsening of PHPT.

INTRODUZIONE

L'iperparatiroidismo primitivo (IPTP) è una malattia endocrina caratterizzata da un'eccessiva e parzialmente incontrollata secrezione di paratormone (PTH) da parte di una o più paratiroidi iperfunzionanti [1]. Le principali azioni del PTH si verificano a livello dell'osso, con l'aumento dell'attività osteoclastica e conseguente riassorbimento osseo ed un quadro variabile di osteopenia ed aumentato rischio di frattura [1], e a livello renale con un aumento del riassorbimento di calcio nel glomerulo. Entrambe queste azioni, associate ad un effetto indiretto del PTH sull'aumento dell'assorbimento intestinale di calcio, sono responsabili dell'ipercalcemia.

La diagnosi è comune nei paesi in cui lo screening laboratoristico di massa è diventato di routine e l'ipercalcemia è quindi rapidamente diagnosticata [2]: negli Stati Uniti, l'introduzione di uno screening biochimico sierico agli inizi degli anni '70, ha notevolmente fatto aumentare la prevalenza e l'incidenza della patologia [3].

La malattia può insorgere a qualunque età, ma è rara prima dei 50 anni, ed è più diffusa nel sesso femminile (F:M = 3:1) [4]. Inoltre, il lieve incremento dei valori della calcemia che si verifica subito dopo la menopausa, tende a far aumentare le diagnosi di IP, svelando anche le forme molto lievi. Questo fenomeno spiega, almeno in parte, il rapporto nell'incidenza di malattia 5:1 tra uomini e donne di età superiore a 55 anni [5]. Nell'esperienza della Mayo Clinic l'incidenza annuale dell'iperparatiroidismo è di 4,0 casi per 100.000 abitanti. La prevalenza nella popolazione generale è stimata intorno a 3,0/1000 ed aumenta con l'età in entrambi i sessi [6]. Dai dati preliminari in un recente studio condotto in un paese dell'Italia meridionale (Pescopagano, PZ) su 470 abitanti, che rappresentavano il 40% dell'intera popolazione, la prevalenza dell'IPTP era 0,63% [7].

Nell'80-85% dei casi l'iperparatiroidismo primario è sostenuto dalla presenza di un adenoma singolo originato da una delle paratiroidi inferiori. Nei restanti casi la malattia è quasi sempre sostenuta dall'iperplasia di tutti gli elementi ghiandolari (15-20%) generalmente nelle sindromi endocrine familiari: neoplasie endocrine multiple di tipo 1 e 2, ipercalcemia ipocalciurica familiare, mentre le altre forme più sporadiche sono tipicamente causate da adenomi singoli.

La diagnosi di IPTP si basa sul riscontro in almeno tre successive occasioni di ipercalcemia persistente associata a valori di PTH elevati o ai limiti superiori della norma: un valore di PTH nella metà superiore del range di riferimento, in presenza di elevati livelli di calcemia, è inappropriato ed è altamente suggestivo per iperparatiroidismo primitivo[8,9]. Nella maggior

parte dei laboratori i limiti superiori del calcio totale sierico vengono posti a 10,1-10,4 mg/dl; valori superiori devono essere considerati comunque patologici. I valori di calcemia totale vanno corretti per il tasso delle proteine sieriche e, qualora possibile, è preferibile determinare il calcio ionizzato[10]. La misurazione del PTH plasmatico è in genere sufficiente per differenziare l'IPTP dalle altre cause di ipercalcemia : paraneoplastica, quelle associate a malattie granulomatose (infettive o non infettive), a farmaci (alcalini, diuretici tiazidici, Sali di litio, intossicazione di vitamina D), a malattie endocrine (tireotossicosi, feocromocitoma), ad immobilizzazione e l'ipercalcemia ipocalciurica familiare. Infatti il rilievo di elevati valori di calcemia associati ad un tasso sierico di PTH indosabile o basso, impone la diagnosi differenziale [11].

L'ipofosforemia è un altro dato biochimico caratteristico dell'IPTP, sebbene i livelli di fosforo sierico siano normali nel 20-25% di casi, pur non superando di solito il valore di 3,5 mg/dl.

La secrezione di PTH è controllata, con un meccanismo di feed-back negativo, dalla concentrazione di calcio ionizzato presente nei liquidi extracellulari. La relazione tra le concentrazioni di calcio ionizzato e PTH è di tipo sigmoidale: le paratiroidi sono sensibili anche alle minime oscillazioni dei valori di calcio ionizzato e mantengono costantemente nella norma i livelli di calcemia mediante la secrezione di PTH. Piccole variazioni della concentrazione di calcio ionizzato causano importanti modificazioni della secrezione di PTH e le concentrazioni di PTH sono misurabili anche in presenza di concentrazioni di calcio ionizzato marcatamente elevate. La quota non sopprimibile di PTH secreto dalle ghiandole sopresse, può avere un ruolo nella patogenesi dell'iperparatiroidismo primitivo e di quello secondario, nell'insufficienza renale cronica o dopo un trapianto di rene [12].

Il PTH regola in modo fine la calcemia che, altrimenti, sarebbe soggetta alle brusche variazioni legate all'introduzione intermittente di calcio con l'alimentazione. Agisce direttamente sull'osso provocandone il riassorbimento, attraverso la stimolazione di fattori attivanti gli osteoclasti, quale l'IL-6 liberata dagli osteoblasti, con successiva immissione di sali di calcio nel liquido extracellulare [13]. Agisce direttamente sul rene aumentando l'escrezione del fosfato e il riassorbimento del calcio a livello del tubulo contorto distale. Mentre la risposta renale al PTH è più rapida, quella ossea è tipicamente molto più lenta, probabilmente a causa di una cascata di eventi più complessa. Il PTH aumenta, con meccanismo indiretto, il riassorbimento di calcio introdotto con gli alimenti: infatti, stimola la 25-idrossi-vitamina-D-1 alfa idrossilasi a livello renale. Questo enzima agisce su un precursore debolmente attivo del colecalciferolo (25-idrossi-vitamina D₃, calcifediolo) dando

origine alla forma attiva, 25-diidrossi-vitamina D3 (calcitriolo). L'ormone attivo agisce poi sull'intestino stimolando l'attività di una proteina legante il calcio e facilitando il trasporto del calcio dal lume intestinale al torrente circolatorio. L'azione combinata del PTH su rene, osso e intestino aumenta il flusso del calcio verso il liquido extracellulare e difende l'organismo dall'ipocalcemia. La cellula paratiroidea è unica nella sua capacità di avvertire e rispondere alle modificazioni delle concentrazioni ambientali del calcio. Il recettore extracellulare sensibile al calcio localizzato sulla superficie delle cellule paratiroidee, e responsabile della trasduzione del segnale, è stato recentemente clonato. L'aumento del calcio extracellulare inibisce la secrezione di PTH e la crescita delle cellule paratiroidee, riduce la 1 alfa-idrossilazione renale della 25-idrossi-vitamina D3 e stimola la secrezione di calcitonina da parte delle cellule C della tiroide [14].

Probabilmente la causa primitiva dell'eccessiva proliferazione delle cellule paratiroidee è una mutazione somatica nei geni chiave per il controllo della crescita cellulare [15]. Tale crescita autonoma, comunque ad eccezione del caso del carcinoma paratiroideo sembra essere autolimitantesi. Infatti, una volta stabilito il nuovo set della concentrazione extracellulare del calcio, gli indici biochimici dell'iperparatiroidismo possono rimanere sostanzialmente stabili per lunghi periodi di tempo, come si verifica in molti casi di lieve iperparatiroidismo [16].

Circa l'80% dei pazienti con IPTP sono asintomatici e segni e sintomi quando presenti, sono più la conseguenza di una prolungata ipercalcemia che di elevati livelli di PTH. Data la diffusione dei programmi di screening biochimico automatizzato, l'IPTP è spesso identificato casualmente in soggetti con ipercalcemia asintomatica, mentre è drasticamente calata l'incidenza della classica sintomatologia scheletrica e renale della malattia [17].

Le principali manifestazioni renali dell'IPTP sono la nefrolitiasi e la nefrocalcinosi [18]. La prima rappresenta tuttora il quadro clinico più frequente nei pazienti sintomatici, sebbene la sua incidenza sia diminuita rispetto agli anni '60-'70 [19].

I calcoli sono più spesso di fosfato di calcio. Fra i fattori che determinano una sopra-saturazione urinaria di sali di calcio troviamo: l'ipercalciuria, legata all'eccessivo assorbimento intestinale Vitamina D-dipendente dello ione, nonostante il maggior riassorbimento tubulare indotto dal PTH (Parathyroid Hormone); l'aumentato assorbimento intestinale di ossalati; la lieve alcalinizzazione urinaria causata dall'azione diretta del PTH sul riassorbimento dei bicarbonati. Inoltre, le alterazioni cellulari causate dall'ipercalcemia sembrano contribuire alla formazione di cilindri epiteliali calcifici, che offrirebbero la matrice organica per la nucleazione ed il successivo accrescimento dei cristalli di sali di calcio. La nefrocalcinosi si rileva radiologicamente nel 5-10% dei pazienti, come una irregolare

calcificazione diffusa del parenchima renale, specie delle piramidi. La paratiroidectomia riduce di oltre il 90% la frequenza con cui vengono prodotti nuovi calcoli renali, rispetto ai pazienti non operati [20].

Manifestazioni cliniche correlate all'ipercalcemia, riscontrate in un terzo circa dei pazienti, sono l'intensa astenia, l'anoressia, la sonnolenza, l'incapacità a concentrarsi, la sete e la poliuria.

Sintomi gastrointestinali frequenti sono anoressia, nausea e vomito, con possibile calo ponderale.

Sintomi neurologici e psichici vaghi e non specifici sono debolezza, ansia e depressione .

Recenti segnalazioni europee, suggeriscono che all'IPTP sia associato un incremento di mortalità e di morbilità per malattie cardiovascolari; secondo le statistiche statunitensi, in cui prevalgono i casi più lievi, il rischio cardiovascolare sarebbe addirittura inferiore a quello della popolazione generale [21]. Sembra inoltre che l'IPTP possa peggiorare alcune conseguenze cardiache dell'ipertensione, quali ipertrofia, disfunzione diastolica, prolungamento della fase di rilascio isovolumetrico, fibrosi , alterazioni della parete carotidea 'rigidità vascolare ed incremento dello spessore dell'intima e della media' nei pazienti in cui coesistesse almeno uno dei fattori riconosciuti di rischio cardiovascolare [22].

La crisi ipercalcemica acuta o paratiroidotossicosi, che si instaura quando la calcemia superi 15-16 mg/dl, è un quadro clinico temibile, caratterizzato dall'esacerbazione dei sintomi dell'ipercalcemia; è provocato dall'immissione massiva di PTH in circolo, a causa di variazioni spontanee dell'ipercalcemia o di emorragie all'interno della ghiandola.

Alla marcata poliuria iniziale fanno seguito disidratazione, oliguria ed iperazotemia; i pazienti avvertono profonda astenia muscolare, nausea, vomito e progressivo obnubilamento del sensorio, fino al coma. Se l'ipercalcemia e la disidratazione non vengono corrette prontamente può subentrare l'*exitus*, causato dall'insufficienza renale ingravescente o da gravi aritmie cardiache.

Fra le manifestazioni scheletriche, la classica osteite fibrosa cistica di von Recklinghausen, caratterizzata da grave demineralizzazione generalizzata, cisti ossee, tumori bruni, deformità o fratture, è ora molto rara, probabilmente perché la malattia viene diagnosticata più precocemente.

Nell'iperparatiroidismo l'osso corticale è il sito prevalentemente interessato, mentre l'osso trabecolare viene relativamente risparmiato. La modalità di compromissione scheletrica attualmente più comune è invece un quadro di riduzione della densità minerale ossea, che è significativamente ridotta nelle sedi a prevalente composizione corticale, come la diafisi

radiale in quanto il PTH esercita un'azione catabolica sull'osso corticale. Al contrario, i siti in cui prevale il tessuto trabecolare, come le vertebre, sono di solito relativamente risparmiati, a causa dell'effetto anabolico che il lieve eccesso di PTH esercita sull'osso spugnoso [23].

A livello del collo femorale si rileva un comportamento intermedio rispetto ai due precedenti. L'effetto del PTH sugli osteoclasti è indiretto ovvero mediato dagli osteoblasti; tuttavia, non può essere esclusa un'azione diretta sui precursori degli osteoclasti in modo da favorirne la differenziazione in osteoclasti maturi.

L'azione del PTH sulle cellule della linea osteoblastica si esplica attraverso recettori specifici con attivazione dell'adenilato ciclasi e della fosfolipasi C, che determinano la crescita e la differenziazione verso gli osteoblasti maturi. Elevati livelli circolanti di PTH sono associati all'aumento del turnover osseo, ovvero aumento del riassorbimento da parte degli osteoclasti con aumentata attività osteoblastica. Il PTH aumenta la sintesi osteoblastica di alcune citochine, coinvolte nell'attivazione degli osteoclasti e di conseguenza nel riassorbimento osseo, come l'interleuchina 6 (IL-6) e il fattore di necrosi tumorale (TNF). Questa azione è stata dimostrata anche in vivo: in pazienti affetti da iperparatiroidismo primitivo sono stati rilevati livelli di IL6, recettore circolante dell'IL6 e TNF molto più elevati rispetto ai controlli. Le concentrazioni di queste citochine inoltre si correlano con quelle dei marcatori di rimodellamento osseo e dopo l'intervento chirurgico tornano nella norma [24].

Studi in vivo hanno dimostrato inoltre che il diverso effetto del PTH sul tessuto osseo (anabolico e catabolico nei diversi siti scheletrici) dipende dalle modalità di somministrazione. La somministrazione continua di frammenti amino-terminali sintetici del PTH (aminoacidi 1-34) in quantità farmacologiche aumenta il turnover osseo, in particolare la fase di riassorbimento supera quella di neoformazione determinando una perdita netta di osso trabecolare. La somministrazione periodica dei frammenti (una-due volte al giorno) determina invece effetti anabolici sull'osso trabecolare. L'effetto anabolico del PTH è stato dimostrato anche nell'uomo e ha determinato l'impiego di questa molecola nella terapia dell'osteoporosi [25]. La secrezione del PTH nei pazienti affetti da iperparatiroidismo primitivo non è continua, ma pulsatile questo potrebbe spiegare il motivo per il quale in questi pazienti prevale l'effetto anabolico.

L'aumento del rimodellamento osseo, soprattutto a livello della superficie endostale, è la caratteristica principale del coinvolgimento scheletrico nell'IPTP; nell'osso corticale gli studi istomorfometrici hanno confermato i dati ottenuti con gli studi densitometrici ovvero una riduzione della massa ossea soprattutto a livello endostale, con riduzione dello spessore e aumento della porosità del 30% [26]. A livello dell'osso trabecolare, nonostante l'incremento

del turnover osseo (di circa il 50%), il volume osseo è mantenuto e talvolta aumentato nei pazienti affetti da IPTP rispetto ai controlli. L'aumento del volume determina una maggiore resistenza alle forze compressive [27].

La microarchitettura ossea è, insieme alla densità minerale ossea (BMD), uno dei parametri fondamentali per la valutazione della resistenza ossea. Nell' IPTP è stato evidenziato, attraverso la valutazione della superficie trabecolare e del bone perimeter, un aumento del numero delle trabecole e una riduzione della loro separazione.

Valutando questi indici in funzione dell'età in pazienti con IPTP e in soggetti di controllo è stata evidenziato che livelli di PTH modestamente elevati possono ritardare i normali processi di invecchiamento della microarchitettura dell'osso trabecolare, in quanto nell'invecchiamento fisiologico della donna, la perdita di massa ossea a livello trabecolare avviene attraverso un aumento del rimodellamento osseo, che determina la riduzione del numero e l'aumento della separazione delle trabecole senza significativa riduzione del loro spessore; invece nell' IPTP si verifica una riduzione dello spessore di ogni trabecola senza la riduzione delle connessioni trabecolari. Questo viene confermato confrontando pazienti affetti da IPTP e soggetti di controllo in quanto è stato osservato dalla biopsia eseguita a livello della cresta iliaca nei pazienti con IPTP che le trabecole sono interconnesse tra loro in misura maggiore rispetto ai controlli [28].

L'uso della densitometria ossea nella diagnosi dell'osteoporosi, peraltro divenuta di uso comune, ha consentito di individuare il diverso interessamento scheletrico nella malattia asintomatica. Nella maggior parte dei pazienti con iperparatiroidismo primario le manifestazioni rilevanti della malattia sono solamente un grado variabile di osteopenia ed aumentato rischio di frattura [29].

L'evidenza fornita da alcuni studi del recupero di massa ossea presente maggiormente a livello dell'osso trabecolare dopo la paratiroidectomia ed i dati sulle fratture hanno determinato la revisione dei precedenti criteri dell'NIH per l'intervento chirurgico, in quanto l'esito della chirurgia si traduce in un sostanziale aumento della densità minerale ossea (BMD) [30-34]. Una "Consensus Conference" dell'NIH (National Institute of Health) tenutasi nel 2002, ha stabilito che la paratiroidectomia è indicata qualora si rilevi almeno una delle seguenti condizioni:

- a) calcemia corretta per l'albumina 1 mg/dl al di sopra del range di normalità;
- b) eliminazione urinaria di calcio nelle 24 ore maggiore di 400 mg;
- c) clearance della creatinina ridotta del 30% rispetto ai soggetti sani di pari età;

- d) bassa densità minerale ossea, con un T-score < -2,5, in qualsiasi sito del rachide lombare, del femore e del radio distale;
- e) età minore di 50 anni;
- f) difficoltà o impossibilità per il paziente a sottoporsi ad un periodico controllo clinico-laboratoristico.

Questi suddetti criteri sono stati in parte modificati, a Maggio 2008, al Terzo Workshop Internazionale sull' IPTP, stabilendo che le linee guida per un approccio chirurgico di paratiroidectomia in pazienti affetti da iperparatiroidismo primario asintomatico sono:

- a) calcemia corretta per l'albumina 1 mg/dl al di sopra del range di normalità;
- b) non è più indicata la calciuria;
- c) clearance della creatinina ridotta < 60 ml/min;
- d) bassa densità minerale ossea, con un T-score < -2,5, in qualsiasi sito del rachide lombare, del femore, del radio distale e/o pregressa frattura da fragilità;
- e) età minore di 50 anni;
- f) difficoltà o impossibilità per il paziente a sottoporsi ad un periodico controllo clinico-laboratoristico.

Tuttavia, una parte dei pazienti sono considerati non idonei alla chirurgia paratiroidea sia per complessi problemi di salute o perché la rifiutano.

Il follow-up a lungo termine dei pazienti con IPTP è stato recentemente riportato in 3 studi [34-36]. Nell'insieme, questi studi suggeriscono che gli indici biochimici (calcemia, PTH, e creatinina) rimangono stabili a lungo (10-18 anni) nel follow-up. Tuttavia, i valori di BMD bassa e un aumento del rischio di frattura è un dato comune, indipendentemente dal fatto che i pazienti vengano classificati come sintomatici o asintomatici [37]. Pertanto, nei pazienti non idonei per la correzione chirurgica una protezione scheletrica con agenti anti-riassorbitivi è considerata una scelta ragionevole. Le opzioni mediche per il trattamento delle complicanze scheletriche da IPTP comprendono i bisfosfonati, la terapia ormonale sostitutiva (HRT) ed il raloxifene [38]. Da studi randomizzati, controllati contro placebo dei bifosfonati [39-41], HRT [42] si evidenziava che questi agenti sono in grado di diminuire in modo efficace il turnover osseo e di aumentare la densità minerale ossea in IPTP in misura paragonabile a quella osservata dopo l'intervento chirurgico [43,44].

I bisfosfonati sono spesso preferiti, a causa degli effetti collaterali non-scheletrici della terapia ormonale sostitutiva a lungo termine, sebbene che l'efficacia anti-fratturativa è disponibile per entrambe. L'alendronato orale è stato l'agente più frequentemente valutata [39-41,43,45]. La modalità di somministrazione scomoda dei bisfosfonati per via orale (30-60 minuti prima del

consumo di cibo al mattino), la scarsa tolleranza gastrointestinale, il limitato e variabile assorbimento gastrointestinale può rappresentare un ostacolo in pazienti anziani o in pazienti con una storia di malattia gastrointestinale. Per questo motivo negli ultimi anni sono stati sviluppati due formulazioni endovenose di bisfosfonati, l'Ibandronato e lo Zoledronato, per il trattamento dell'osteoporosi post-menopausale [46,47].

L'Acido Neridronico (neridronato, NER) è un bisfosfonato che contiene azoto, strutturalmente simile al Pamidronato ed all'Alendronato, ha dimostrato di essere efficace ed è stato registrato in Italia per il trattamento della malattia di Paget osseo [48] e l'Osteogenesi imperfetta [49,50]. Dagli studi di fase II, 50 mg di Neridronato per via endovenosa ogni 2 mesi [51] o di 25 mg per via intramuscolare mensilmente [52] hanno evidenziato l'efficacia di ridurre il turnover osseo e di aumentare le densità minerale ossea in donne con osteoporosi postmenopausale.

In questo studio abbiamo indagato gli effetti del trattamento con il Neridronato per via endovenosa in pazienti donne in post menopausa affette da IPTP e con ridotta massa ossea su BMD, markers del turnover osseo, metabolismo fosfocalcico e le conseguenze a lungo termine sul metabolismo osseo e minerale dopo la sospensione del trattamento.

PAZIENTI E METODI

Pazienti :

La popolazione dello studio include donne in postmenopausa con IPTP seguite presso il nostro centro di osteoporosi. La diagnosi è stata confermata dalla presenza in almeno tre diverse occasioni di ipercalcemia e di valori elevati di PTH. Alcuni di questi pazienti sono state inviate al nostro centro dal curante per il riscontro casuale di ipercalcemia, nelle altre è stata fatta la diagnosi eseguendo esami di routine per l'osteoporosi secondaria. Tutte le pazienti erano asintomatiche ed avevano una bassa densità minerale ossea (BMD) con un valore T-score < -1,0 in uno o più siti scheletrici (colonna lombare, femorale, radiale). Le pazienti con indicazioni per la paratiroidectomia secondo le linee guida dell'Istituto Nazionale della Sanità NIH, inclusi anche i bassi valori di BMD [53], sono state invitate a partecipare allo studio solo dopo aver rifiutato di sottoporsi all'intervento chirurgico. Sono stati esclusi pazienti di sesso maschile e donne in premenopausa in quanto sono spesso sintomatici per IPTP ed al fine di includere una popolazione omogenea in termini di metabolismo osseo. Altri criteri di esclusione erano: trattamento negli ultimi 18 mesi con

estrogeni, bifosfonati e/o altri farmaci che interferiscono con il metabolismo osseo, tumori maligni, disfunzione tiroidea, epatica, o altre disfunzioni che potrebbero influenzare la massa ossea, altre patologie del metabolismo osseo, insufficienza renale con un valore della creatininemia > 2,0 mg/dl. Le pazienti con severo IPTP definito con un singolo riscontro di calcemia > a 12,0 mg/dl sono state escluse e, se non idonee al trattamento chirurgico è stato consigliato l'avvio terapeutico con Cinacalcet.

Disegno dello studio :

Tutte le pazienti selezionate sono state programmate a ricevere terapia infusiva con Neridronato 100 mg diluiti in 100 cc di fisiologica, di durata non inferiore a 30 min, ogni 2 mesi per due anni con ultima infusione a mesi 24, con ulteriori due anni follow-up durante i quali non sono state trattate con terapia antiriassorbitiva. A tutte le pazienti è stato consigliato un'integrazione giornaliera con 400 UI Vitamina D3 che è stata aumentata a 600 UI quando l'esposizione solare è stata inferiore a 60 minuti a settimana.

Metodi :

Sono stati eseguiti esami ematochimici a digiuno, al basale e a 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48 mesi, del metabolismo fosfocalcico, la calcemia, la fosforemia, la creatininemia (Standard Multichannel Autoanalysers), PTH intatto (Diagnostic Systems Laboratories, Nichols, CA, USA). La calcemia è stata corretta per albuminemia. Fosfatasi alcalina ossea (Tandem-MP Ostase assay, Hybritech, Liege, Belgium) C-Telopeptide collagene tipo I sierico (CTX, Crosslaps ELISA Kit, IDS, Bolden, UK), 25(OH) Vitamina D sierico (25OHD, ELISA Kit, IDS, Bolden, UK), con coefficiente di variazione inter-assay in un range da 5 a 15%, misurati in più tempi al basale, a 2 e a 4 anni.

Il BMD è stato misurato usando dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA; Hologic QDR 4500; Hologic Inc. USA). Sono state eseguite, ogni 6 mesi, scansioni a livello della colonna lombare, del collo femorale, del femore totale, del radio ultradistale ed analizzati usando il software del produttore. Le vertebre con deformità e/o sclerosi o scoliosi severe sono state escluse dalle misurazioni e le scansioni sono state utilizzate solo se almeno due vertebre lombari erano valutabili. Nel nostro centro la precisione delle misurazioni DXA sono del 1% per la colonna lombare, 1,4% per il collo femorale, 1,2% per il femore totale, 1,8% e 1,6% per l'ultradistale ed il terzo radiale rispettivamente.

I pazienti sono stati sottoposti ad un monitoraggio costante degli eventi avversi dal farmaco in studio e delle fratture. Per le fratture non-vertebrali abbiamo previsto di ottenere una

documentazione a raggi X. Periodici controlli a raggi X della colonna vertebrale non erano previste, ma una valutazione radiografica era prevista ogni qualvolta che le pazienti riferivano una rachialgia persistente al momento della IV infusione. Per protocollo, se una frattura osteoporotica si era verificata una terapia dell'osteoporosi doveva essere ripresa durante il post-trattamento durante il follow-up.

Lo studio è stato condotto in conformità con i principi etici della Dichiarazione di Helsinki ed è stato approvato dal comitato etico locale di ricerca. Un consenso informato scritto è stato ottenuto da ogni paziente.

Analisi statistica :

La significatività delle variazioni percentuali ed assoluti dei parametri biochimici e della densità minerale ossea rispetto al basale è stata valutata mediante ANOVA e Student t-test per l'osservazione delle medie. La correlazione è stata effettuata utilizzando la correlazione di Spearman (SPSS 8.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RISULTATI

La popolazione dello studio è stata il risultato di una coorte di 224 pazienti affette da iperparatiroidismo primitivo giunte alla nostra osservazione durante i quattro anni, 82 pazienti erano eleggibili, 60 pazienti hanno accettato di partecipare allo studio, 54 pazienti hanno completato i due anni di trattamento, 6 pazienti hanno lasciato lo studio per violazione del protocollo o per malattie severe intercorrenti, 16 pazienti dei 54 non hanno proseguito i due anni di follow up : 13 pazienti hanno accettato di sottoporsi alla paratiroidectomia, 3 pazienti hanno ritirato il consenso. Il periodo di follow-up è stato completato da 38 pazienti.

Le misurazioni DXA tecnicamente accettabili sono state ottenute in tutte le pazienti a livello femorale ma solo in 48 pazienti a livello della colonna ed in 56 pazienti a livello radiale.

Le caratteristiche cliniche al basale sono evidenziate nella tabella n.1. l'età media delle pazienti era 64 ± 8 anni (\pm SD), con un tempo medio intercorso dalla diagnosi di $1,5 \pm 1,1$ anni.

75% delle pazienti avevano valori sierici elevati di fosfatasi alcalina ossea, 10% avevano una anamnesi positiva per calcolosi renale, 19% avevano in anamnesi ulcera peptica o pregressi

sanguinamenti del tratto gastrointestinale superiore. L'intero gruppo aveva elevata prevalenza di patologie concomitanti : ipertensione arteriosa 55%, diabete mellito 16%, cardiomiopatia ischemica 8%.

Livelli sierici di 25 OHD < 50 nmol/L sono stati osservati in 76% delle pazienti.

È stato osservato un aumento progressivo del BMD del $6,6 \pm 7,6$ (SD)%, $2,9 \pm 4,5\%$ e $5,0 \pm 3,9$ % rispettivamente alla colonna lombare, al collo femorale ed al femore totale (figura n.1) con un valore picco statisticamente significativo a 6 mesi dopo l'ultima infusione a 24 mesi per poi calare gradualmente nel periodo di follow-up mantenendosi comunque a 48 mesi a livelli superiori rispetto al basale a livello della colonna $+ 3,9 \pm 5,5\%$ ($p < 0,01$), mentre a livello del femore ritornava a livelli del basale dopo i 2 anni di sospensione farmacologica (figura1). non si sono osservati modificazioni significative a livello radiale sia prossimale che ultradistale.

La fosfatasi alcalina ossea ed il CTX sierico hanno avuto un calo significativo entro 6 mesi, con un nadir value dopo 18-24 mesi (figura 2). Durante il periodo di follow-up, dopo il trattamento farmacologico, tutti i markers del turnover osseo sono aumentati per tornare al valore del basale entro 6 mesi.

La calcemia è calata leggermente entro i primi 12 mesi del trattamento (figura 3). Le variazioni del calcio sierico a 6 mesi erano significativamente correlati alle variazioni della fosfatasi alcalina ossea a 12 mesi ($p = 0,03$) (risultati non mostrati).

La fosforemia è calata leggermente durante il trattamento e le variazioni hanno raggiunto occasionalmente la significatività statistica (figura 3). le sue variazioni sono risultate significativamente correlate con la fosfatasi alcalina ossea ($p = 0,03$) (risultati non mostrati).

La creatininemia era al di sopra dei livelli normali ($\geq 1,2$ mg/dl) in 5 pazienti. Alla fine del trattamento (2 anni) e nel follow-up (4 anni) sono stati osservati valori alterati di creatininemia in 5 e 7 pazienti ed i livelli medi sono aumentati del $0,04 \pm 0,13$ (SD) (risultati non in figura).

I valori del PTH sierico sono aumentati significativamente rispetto al basale solo durante il secondo anno di trattamento, ma hanno continuato ad aumentare e si sono mantenuti significativamente elevati rispetto al basale durante il periodo di follow-up (figura 3) sia come variazioni assolute che percentuale.

I livelli sierici di 25OHD < 50 nmol/L sono stati osservati nel 76% dei pazienti, e questa percentuale è rimasta invariata a 2 e a 4 anno (figura 4).

Le variazioni percentuali del PTH rispetto al basale, a 2 e 4 anni, erano significativamente correlati con i livelli del 25OHD osservati sia al basale che durante il trattamento ($p < 0,011$) (figura 5).

22 pazienti avevano in anamnesi pregresse fratture cliniche, in 6 delle quali erano a livello della colonna. Sono state verificate fratture cliniche in 2 pazienti (avambracci) durante i due anni di trattamento con il Neridronato ed in 4 pazienti (2 avambracci e 2 corpi vertebrali) dopo la sospensione del trattamento.

Il Neridronato è stato ben tollerato: 19% delle pz hanno avuto reazione di fase acuta (dolori muscolari, febbre superiore a $37,7^{\circ} C$) entro 24-36 ore dalla prima infusione.

DISCUSSIONE

Abbiamo già dimostrato precedentemente i benefici densitometrici del trattamento con l'Alendronato nell'iperparatiroidismo primario in donne in post-menopausa [43].

In questo studio condotto con Neridronato somministrato per via endovenosa, abbiamo ampliato la casistica ed abbiamo seguito i pazienti per ulteriori due anni dopo la sospensione del trattamento.

Le variazioni del BMD osservate sia a livello del femore che della colonna erano abbastanza simili a quelle riportati precedentemente con l'alendronato per via orale in pazienti affetti da IPTP [39,40,43,45), ma anche con il Neridronato in donne affette da osteoporosi postmenopausale [51,52]. Dopo la sospensione del trattamento con Neridronato il BMD calava per ritornare a livello del basale solamente dopo due anni. Se queste variazioni riflettessero una corrispondente variazione nel rischio di frattura, uno schema di trattamento intermittente con i bisfosfonati sarebbe plausibile almeno in pazienti con moderato-basso rischio di frattura.

Le variazioni dei nuovi markers del turnover osseo non sono mai stati indagati attentamente nei precedenti studi in pazienti affetti da IPTP. Abbiamo trovato che le variazioni erano simili a quelle riportate nell'osteoporosi postmenopausale con metà dose di Neridronato [51]; questo potrebbe far pensare ad una scarsa risposta agli antiriassorbitivi connessa ai livelli elevati di PTH, suggerendo l'opportunità di utilizzare dosi superiori a quelle ritenute adeguate per l'osteoporosi postmenopausale.

Dopo la sospensione del trattamento i valori della fosfatasi alcalina ossea e del CTX sierico ritornavano gradualmente ai livelli basali, come nell'osteoporosi postmenopausale [51]. Variazioni simili sono state osservate nei livelli sierici di osteocalcina e fosfatasi alcalina ossea a 24 settimane dopo la sospensione dell'Alendronato [39].

Il trattamento con il Neridronato era associato con un lieve calo dei livelli sierici della calcemia, della fosforemia, ed un aumento significativo dei livelli sierici del PTH. Una variazione simile è stata osservata nei nostri studi precedenti [43], ma non in altri [39,40,45]. Questa discordanza potrebbe essere attribuita alla casistica insufficiente (3 volte inferiore alla nostra), ma anche alle diverse caratteristiche della popolazione dello studio. Nella nostra coorte i markers del turnover osseo erano piuttosto elevati (s-CTX e B-ALP 3,4 e 2 volte oltre il limite superiore della norma), considerevolmente maggiori di quelli riportati negli altri studi [39,40]. La rapida riduzione dei livelli sierici del calcio e del fosfato, associata ad opposte variazioni proporzionali dei livelli del PTH, era probabilmente dovuto ad un bilancio fosfocalcico scheletrico positivo secondario al trattamento con i bisfosfonati. Questo bilancio positivo è proporzionale alle condizioni basali di turnover osseo. In effetti avevamo osservato una correlazione positiva tra i markers del turnover osseo al basale e le variazioni sia della calcemia che della fosforemia. Quindi è probabile che più alto è il turnover osseo iniziale, maggiore è il bilancio osseo positivo e quindi maggiori sono le variazioni della calcemia, della fosforemia e del PTH.

La carenza di Vitamina D era piuttosto comune nei nostri pazienti. Questo riscontro è più frequente nei pazienti affetti da IPTP rispetto alla popolazione generale [54], ma i valori al basale riscontrati in questo studio erano simili a quelli che trovavamo nelle persone di pari età della nostra regione [61]. Un altro contributo di questo studio è l'osservazione dell'inadeguatezza della dose allora raccomandata di Vitamina D (400-600 UI/die), che è stato solo in grado di mantenere livelli stabili del 25OHD. Ci pare interessante anche la correlazione che abbiamo trovato tra le variazioni dei livelli del PTH in relazione ai livelli basali 25OHD. E' noto che i livelli del PTH sierico si correlano negativamente con i livelli del 25OHD in popolazioni con diversi gradi di deficienza di Vitamina D e con funzionalità paratiroidea nella norma [55]. Già diversi anni fa il nostro gruppo di ricerca aveva osservato che il trattamento con Vitamina D in pazienti affetti da IPTP era associato con un lieve incremento del calcio sierico ed un marcato calo del PTH sierico [56]. Quella era la prima dimostrazione del fatto che il feedback tra i livelli sierici del calcio e del PTH è preservato nella maggior parte dei pazienti con IPTP, sebbene a livelli più alti di calcemia. Il risultato qui osservato è in linea con le nostre prime osservazioni [56,56], suggerendo che i livelli del

25OHD sono in grado di modulare la risposta del feedback di secrezione del PTH a lievi variazioni del calcio sierico in pazienti con IPTP. I livelli del 25OHD devono essere valutati in tutti i pazienti con sospetto IPTP, e la carenza deve essere cautamente corretta appena riscontrata, come indicato dalle più recenti linee guida per la gestione dell'IPTP [58].

Una delle osservazioni più intriganti di questo studio è la persistenza di elevati livelli sierici di PTH a due anni dalla sospensione del trattamento, nonostante la stabilità dei livelli sierici di calcio, fosforo e 25OHD. È stato ben documentato che nella maggior parte delle forme di IPTP i livelli di PTH si mantengono generalmente stabili [34-36,63]. In questo studio, che è stato avviato dalla fine dei nostri precedenti studi controllati con alendronato [43], non abbiamo purtroppo incluso un gruppo di controllo e pertanto non possiamo trarre conclusioni assolute. Gli incrementi nel lungo termine dei livelli sierici di PTH potrebbero essere correlati ad una serie di fattori: l'insufficiente correzione della carenza di Vitamina D, il progressivo lieve peggioramento della funzionalità renale ma anche ad una progressione dell'iperparatiroidismo primitivo, in qualche modo secondario al trattamento con bisfosfonati. È possibile infatti che un calo anche transitorio della calcemia possa tradursi in una riduzione della modulazione recettoriale paratiroidea, aumentata secrezione di PTH ed ulteriore proliferazione delle cellule paratiroidee [64]. Pertanto non possiamo escludere che il trattamento dell'IPTP con bisfosfonati possa nel lungo termine determinare un ingrandimento dell'adenoma e/o delle ghiandole paratiroidee e questo va considerato quando si prescrive un trattamento medico cronico con antiassorbitivi.

CONCLUSIONI

Il trattamento endovenoso con Neridronato nell'IPTP determina una riduzione degli indici laboratoristici di turnover osseo ed un aumento significativo della BMD, sia a livello del femore che della colonna vertebrale.

Questi incrementi della BMD si mantengono in parte fino a 1-2 anni dall'interruzione del trattamento, rendendo razionale un trattamento intermittente con Bisfosfonati.

Il trattamento con Bisfosfonati per via endovenosa dell'IPTP si associa ad un marcato aumento del PTH sierico, soprattutto in soggetti con ridotti livelli di 25OHD. Alla sospensione i livelli di PTH si riducono, ma persistono più elevati rispetto al basale.

	Min	Max	Mean	Std.Dev.
Age (years)	46	77	64	8
Body Mass Index (Kg/m ²)	20	39	26,9	3,9
s-Calcium* (mg/dl) (8.4-10.2) [°]	10.2	12.1	10.7	0.6
s-Phosphate (mg/dl) (2.6-4.6) [°]	1.5	3.5	2.6	0.4
s-Parathyroid Hormone (pg/ml) (10-65) [°]	66	597	166	110
s-25-hydroxy-vitamin D (ng/ml) (20-50) [°]	7	29	16	7
s-Bone-alkaline phosphatase (U/l) (7-24) [°]	18	77	35	14
s-telopeptide of type-I Collagen (ng/ml) (0,10-0,70)	0,25	1,73	0,74	0,39
T score ultra-distal Radius (SD)	-6.4	2	-2.3	1.5
Z score ultra-distal Radius (SD)	-4.8	2.9	-1.1	1.4
T score one-third Radius (SD)	-8	0.9	-3.3	2.2
Z score one-third Radius (SD)	-3.7	1.4	-1.2	1.3
T score lumbar Spine (SD)	-4.7	-0.1	-2.5	1.2
Z score lumbar Spine (SD)	-2.2	1.6	-0.9	1
T score femoral Neck (SD)	-3.7	0.2	-2.2	0.8
Z score femoral Neck (SD)	-1,8	1,3	-0,6	0,7

*Serum calcium levels were adjusted for albumin levels ° Reference range

Tabella 1. Baseline clinical characteristics of the patients with primary hyperparathyroidism

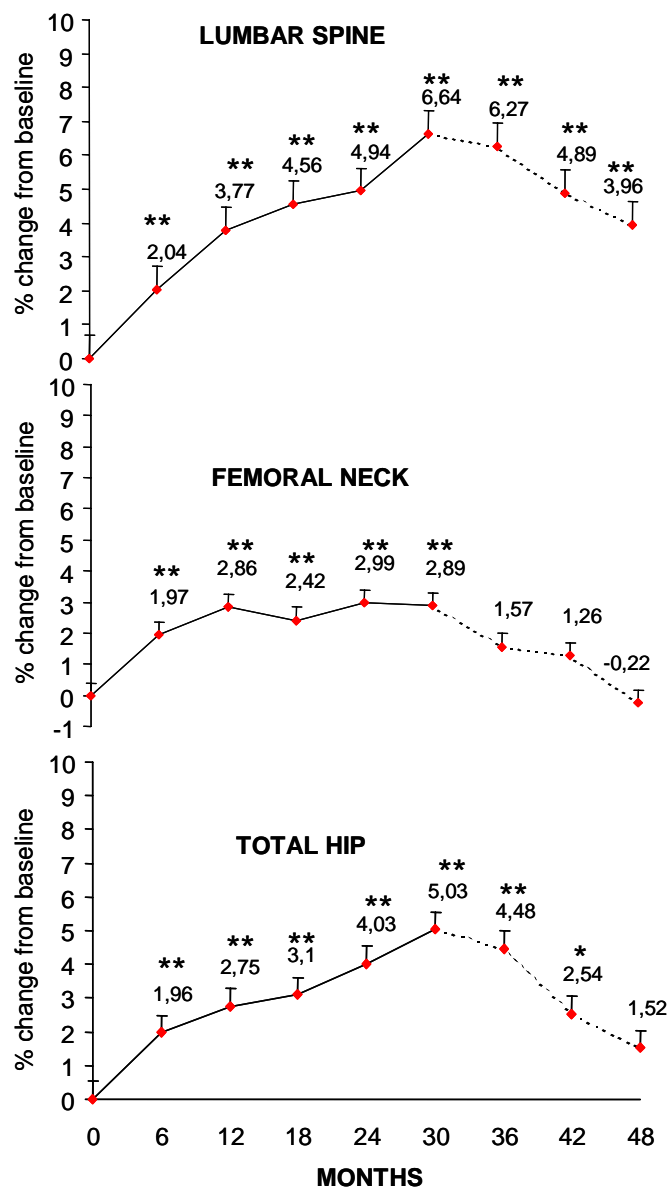


Figure 1

Percent changes in BMD at the spine, femoral neck and total hip. The continuous line indicates the treatment phase and the dotted line the follow-up period

** = P<0.01; * = P<0.05

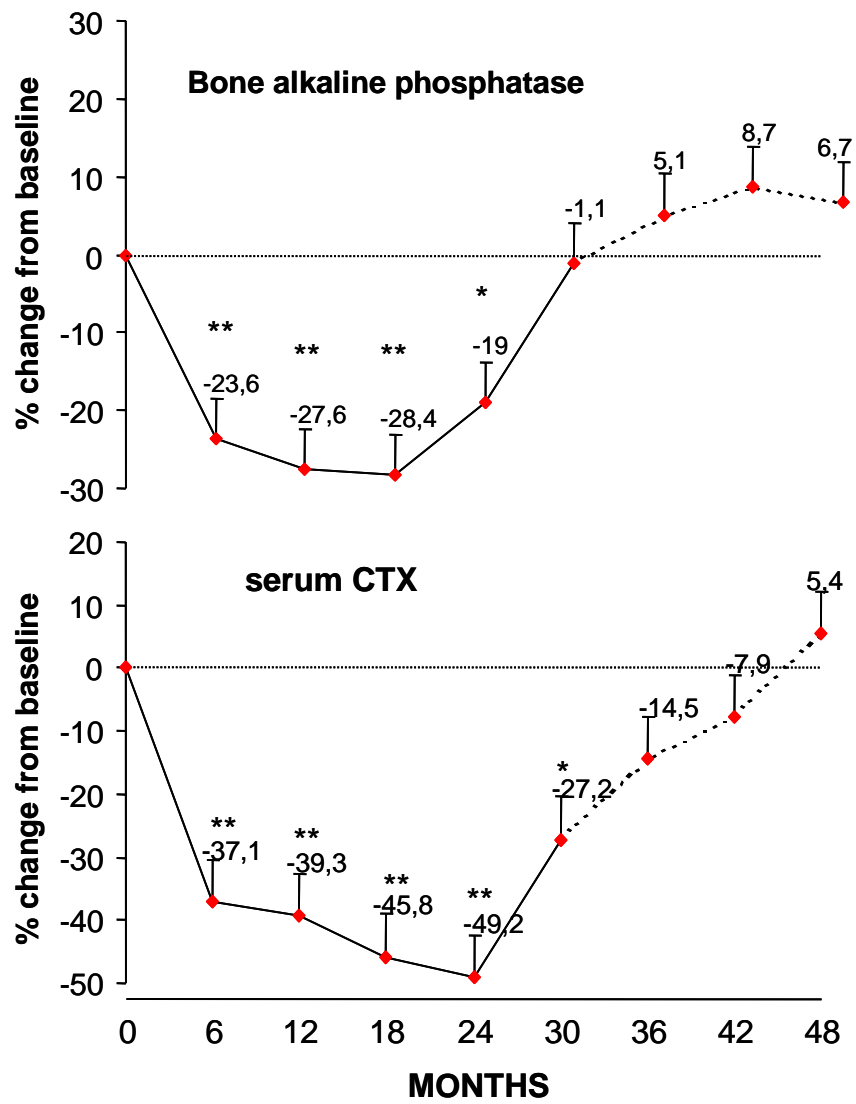


Figure 2

Percent changes in Bone-alkaline phosphatase and serum CTX. The continuous line indicates the treatment phase and the dotted line the follow-up period

** = P<0.01; * = P<0.05

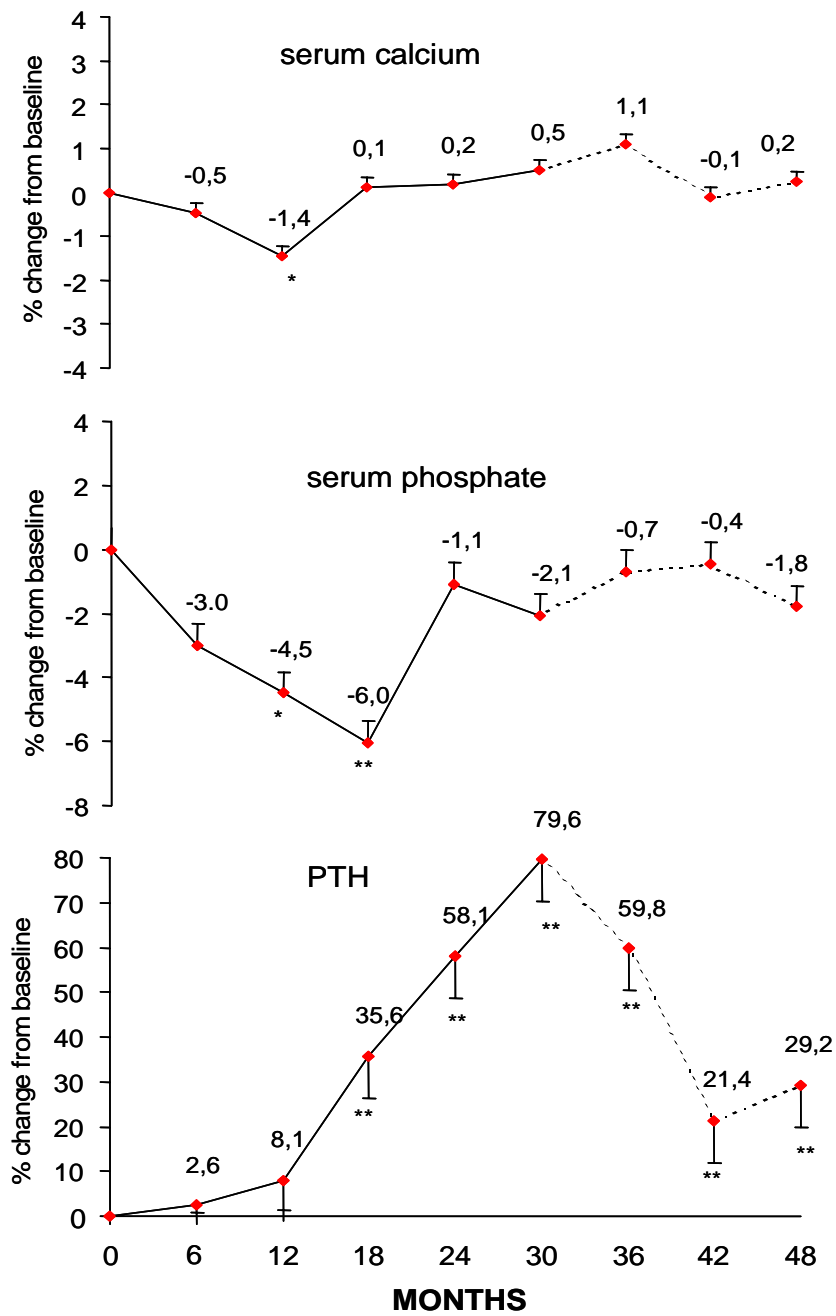


Figure 3

Percent changes in serum calcium, phosphate and PTH. The continuous line indicates the treatment phase and the dotted line the follow-up period

** = $P < 0.01$; * = $P < 0.05$

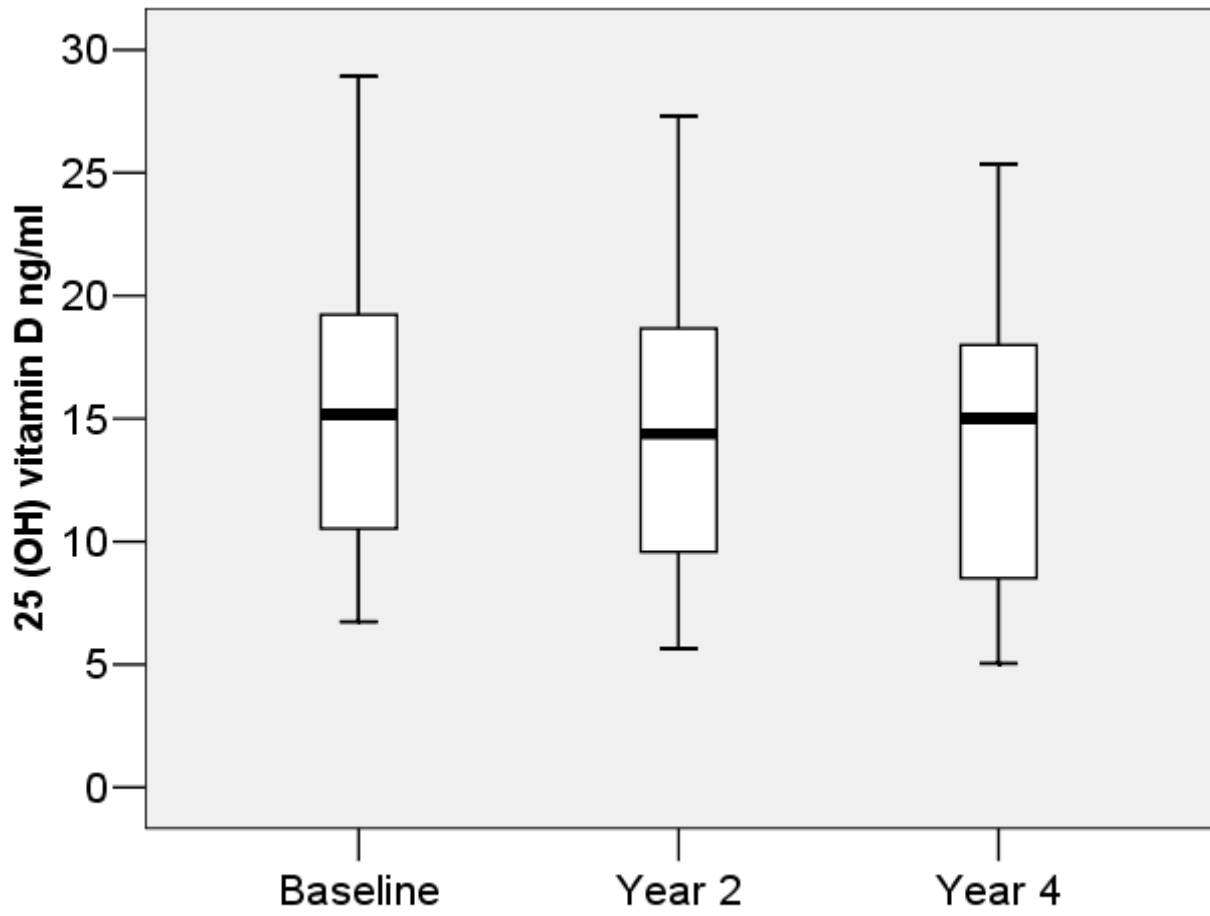


Figure 4
Box-plots of 25OHD levels at baseline, at the end of the 2 years treatment with neridronate (Year 2) and after 2 years of follow-up (Year 4)

**% changes in
serum PTH**

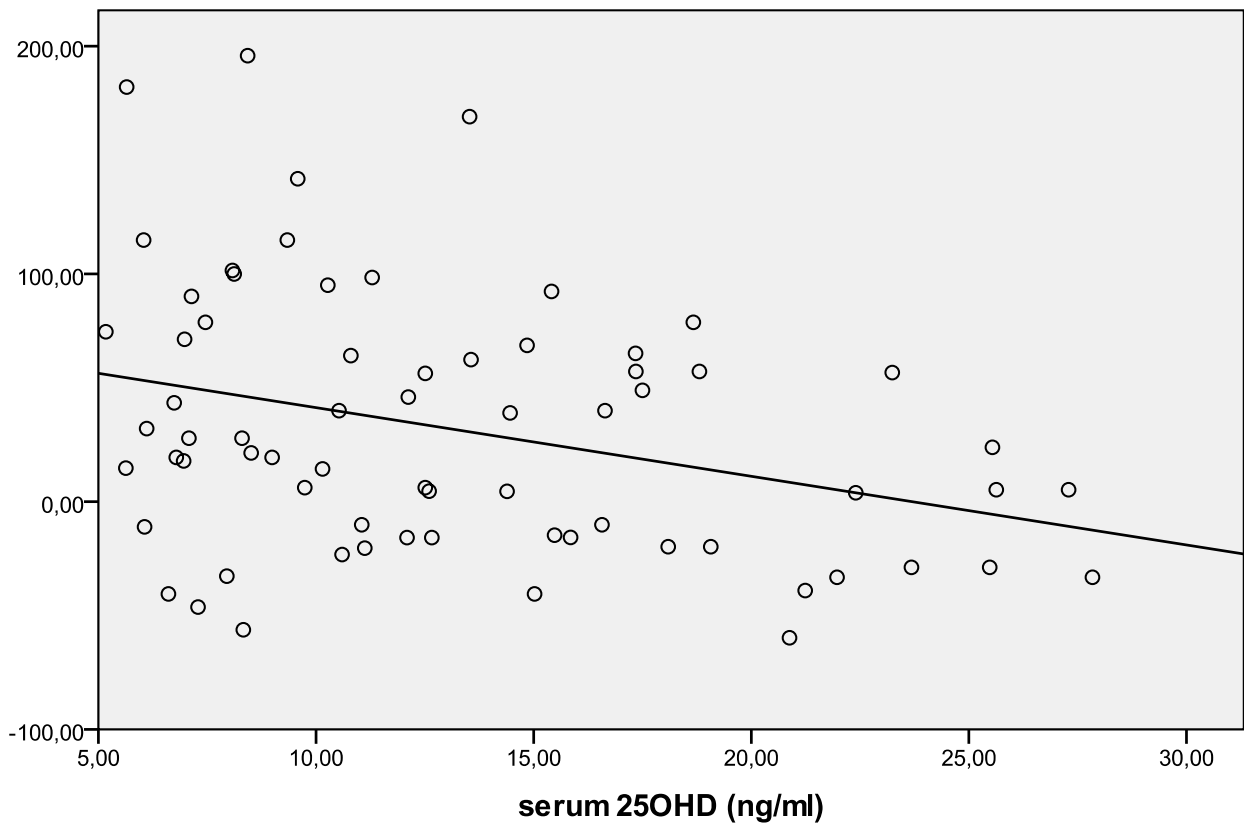


Figure 5

Correlation between percent changes in PTH at year 2 and 4 and 25OHD serum levels at the same time points ($r = 0,26$; $P = 0,011$).

BIBLIOGRAFIA

1. Silverberg SJ, Shane E, de la Cruz L, Dempster DW, Feldman F, Seldin D, Jacobs TP, Siris ES, Cafferty M, Parisien MV. *Skeletal disease in primary hyperparathyroidism*. J Bone Miner Res. 1989; 4:283–291
2. Presenti M, Frasoldati A, Valcavi R *Iperparatiroidismo primitivo: diagnosi e indicazioni terapeutiche* l'Endocrinologo 2003; (4) 1: 2-10.
3. Bilezikian JP, Potts JT, Fuleihan GE-H, Kleerekoper M, Neer R, Peacock M, Rastad J, Silverberg SJ, Udelsman R and Wells S *A Summary Statement from a workshop on asymptomatic primary hyperparathyroidism: a perspective for the 21st century* The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2002;87(12) 5353-5361.
4. Silverberg SJ *Natural history of primary hyperparathyroidism* Endocrinol Metab Clin North Am 2000; 29: 451
5. Adami S, Marcocci C and Gatti D *Epidemiology of primary hyperparathyroidism in Europe* Journal of Bone and Mineral Research 2002; 17 (S2): N18-N23
6. Jorde R, Bonna KH, Sundsfjord J *Primary hyperparathyroidism detected in a health screening: the Tromso study* J Clin Epidemiol 2000; 53: 1164-1169.
7. Chiavistelli S., Malloggi L., Marcocci C., et al. *Prevalenza dell'iperparatiroidismo primario e dell'ipovitaminosi D in un paese dell'Italia meridionale*. X Congresso Nazionale SIOMMMS. 2010; poster 23
8. Silverberg SJ, Shane E, Jacobs TP, Siris E, Bilezikian JP *A 10-years prospective study of primary hyperparathyroidism with or without parathyroid surgery*. N Engl J Med 1999; 341: 1249-1255.
9. Parfitt AM, Rao DS and Kleerekoper M *Asymptomatic primary hyperparathyroidism discovered by multi-channel biochemical screening: clinical course and considerations bearing on the need for surgical intervention*. J Bone Mineral Res 1991; 6 (Suppl 2): S97-S101.
10. Bilezikian JP, Potts JT, El-Hajj Fuleihan G et al (2002) *Summary statement from a workshop on asymptomatic primary hyperparathyroidism: a perspective for the 21st century*. J Clin Endocrinol Metab 87:5353-5361
11. Carroll MF, Shade DS (2003) *A practical approach to hypercalcemia*. Am Fam Physician 67:1959-1966
12. Rosenblatt M, Kronenberg M, Potts JT Jr: *Parathyroid hormone: Physiology, chemistry, biosynthesis, secretion, metabolism, and mechanism of action*, in DeGroot LJ (ed): Endocrinology. Philadelphia, Saunders, 1989, p 848
13. Grey A, Mitnick MA, Shapses S, Ellison A, Gundberg C, Insogna K *Circulating levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha*. A clinical resarh center study J Clin Endocrinol Metab 1996; 81: 3450-3454.

14. Brown EM, Pollak M, Hebert SC *The extracellular calcium-sensing receptor: its role in health and disease*. *Annu Rev Med* 1998, 49: 15-29
15. Arnold A *Molecular mechanisms of parathyroid neoplasia* *Endocrinol Metab Clin North Am* 1994; 23: 93-107.
16. Silverberg SJ, Shane E, Jacobs TP, Siris E, Bilezikian JP *A 10-years prospective study of primary hyperparathyroidism with or without parathyroid surgery*. *N Engl J Med* 1999; 341: 1249-1255.
17. Bilezikian JP, Silverberg JS (2003) *Primary hyperparathyroidism*. In: Favus MJ (ed) *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 5th ed, pp 230-235
18. Peacock M (2002) *Primary hyperparathyroidism and the kidney: biochemical and clinical spectrum*. *J Bone Miner Res* 17:N87-N94
19. V.Carnevale1, E.Romagnoli,A.Scillitani, F.Paglia, J.Pepe,A.Paciaroni, S.De Geronimo C.Santori,V.Baldini, E.D'Erasmo, S.Minisola *Iperparatiroidismo primitivo: recenti acquisizioni*. *Archivio di Ortopedia e Reumatologia* pp.13-15
20. Mollerup CL, Vestergaard P, Gedsø Frøkajaeer V et al (2002) *Risk of renal stone events in primary hyperparathyroidism before and after parathyroid surgery: controlled retrospective follow up study*. *BMJ* 325:807-811
21. Silverberg SJ (2002) *Nonclassical target organs in primary hyperparathyroidism*. *J Bone Miner Res* 17:N117-N125
22. Nilsson IL, Yin L, Lundgren E et al (2002) *Clinical presentation of primary hyperparathyroidism in Europe - Nationwide cohort analysis on mortality from nonmalignant causes*. *J Bone Miner Res* 17:N68- N74
23. Minisola S, Rosso R, Romagnoli E et al (1993) *Trabecular bone mineral density in primary hyperparathyroidism: relationship to clinical presentation and biomarkers of skeletal turnover*. *Bone Miner* 20:113-123
24. Grey A, Mitnick M, Shapses S, et al. *Circulating levels of interlekin-6 and tumor necrosis factor-alpha are elevated in primary hyperparathyroidism and correlate with markers of bone resorption- A clinical research center study*. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996; 81:3450-4
25. Dempster D, Cosman F, Parisien M, et al. *Anabolic actions of parathyroid hormone on bone*. *Endocr Rew*
26. Frost HM, Villanueva AR, Jaworski ZF, et al. *Evaluation of cellular-level haversian bone resorption in human hyperparathyroid states. A preliminary report*. *Henry Ford Hosp Med. J* 1969; 17: 259-66
27. Christiansen P, Steiniche T, Vesterby A, et al. *Primary hyperparathyroidism: iliac crest trabecular bone volume, structure, remodelling, and balance evaluated by histomorphometric methods*. *Bone* 1992; 13:41-9

28. Delling G. *Bone morphology in primary hyperparathyroidism. A qualitative and quantitative study of 391 cas*
29. Silverberg SJ, Shane E, de la Cruz L, Dempster DW, Feldman F, Seldin D, Jacobs TP, Siris ES, Cafferty M, Parisien MV. *Skeletal disease in primary hyperparathyroidism*. J Bone Miner Res. 1989; 4:283–291
30. Rao DS, Phillips ER, Divine GW, Talpos GB. *Randomized controlled clinical trial of surgery versus no surgery in patients with mild asymptomatic primary hyperparathyroidism*. J Clin Endocrinol Metab. 2004; 89:5415–5422
31. Bollerslev J, Jansson S, Mollerup CL, Nordenstrom J, Lundgren E, Topping O, Varhaug J-E, Baranowski M, Aanderud S, Franco C, Freyschuss B, Isaksen GA, Ueland T, Rosen T. *Medical observation, compared with parathyroidectomy, for asymptomatic primary hyperparathyroidism: a prospective, randomized trial*. J Clin Endocrinol Metab. 2007; 92:1687–1692
32. Ambrogini E, Cetani F, Cianferotti L, Vignali E, Banti C, Viccica G, Oppo A, Miccoli P, Berti P, Bilezikian JP, Pinchera A, Marcocci C. *Surgery or surveillance of mild asymptomatic primary hyperparathyroidism: a prospective, randomized clinical trial*. J Clin Endocrinol Metab. 2007; 92:3114–3121
33. Silverberg SJ, Shane E, Jacobs TP, Siris E, Bilezikian JP. *A 10-year prospective study of primary hyperparathyroidism with or without parathyroid surgery*. N Engl J Med. 1999; 341:1249–1255
34. Rubin MR, Bilezikian JP, McMahon DJ, Jacobs T, Shane E, Siris E, Udesky J, Silverberg SJ. *The natural history of primary hyperparathyroidism with or without parathyroid surgery after 15 years*. J Clin Endocrinol Metab. 2008; 93: 3462–3470
35. Iskander J, Rao D. *Long term morbidity and mortality in untreated mild primary hyperparathyroidism*. J Bone Miner Res. 2007; 22:S353
36. Bolland MJ, Grey AB, Orr-Walker BJ, Horne AM, Evans MC, Clearwater JM, Gamble GD, Reid IR. *Prospective 10-year study of postmenopausal women with asymptomatic primary hyperparathyroidism*. N Z Med J. 2008; 121:18–29
37. Vignali E, Viccica G, Diacinti D, Cetani F, Cianferotti L, Ambrogini E, Banti C, Del Fiacco R, Bilezikian JP, Pinchera A, Marcocci C. J Clin Endocrinol Metab 2009; 94:2306-12
38. Khan A, Grey A, Shoback D. *Medical management of asymptomatic primary hyperparathyroidism: proceedings of the Third International Workshop*. J Clin Endocrinol Metab. 2009; 94:373-381.
39. Chow CC, Chan WB, Li JK, Chan NW, Chan MHM, Ko GTC, Lo KW, Cockram CS. *Oral alendronate increases bone mineral density in postmenopausal women with primary hyperparathyroidism*. J Clin Endocrinol Metab. 2003; 88:581–587
40. Khan AA, Bilezikian JP, Kung AW, Ahmed MM, Dubois SJ, Ho AYY, Schussheim D, Rubin MR, Shaikh AM, Silverberg SJ, Standish TI, Syed Z, Syed ZA. *Alendronate in primary hyperparathyroidism: a double blind, randomized, placebo controlled trial*. J Clin Endocrinol Metab. 2004; 89:3319–3325

41. Khan AA, Bilezikian JP, Kung A, Syed ZA, Dubois SJ, Standish TI. *Alendronate therapy in men with primary hyperparathyroidism*. *Endocr Pract* 2009; 15:705-713.
42. Grey AB, Stapleton JP, Evans MC, Tatnell MA, Reid IR. *Effect of hormone replacement therapy on bone mineral density in postmenopausal women with mild primary hyperparathyroidism. A randomized, controlled trial*. *Ann Intern Med*. 1996; 125:360–368
43. Rossini M, Gatti D, Isaia G, Sartori L, Braga V, Asami S. *Effects of oral alendronate in elderly patients with osteoporosis and mild primary hyperparathyroidism*. *J Bone Miner Res*. 2001; 16:113–119
44. Diamond T, Ng AT, Levy S, Magarey C, Smart R. *Estrogen replacement may be an alternative to parathyroid surgery for the treatment of osteoporosis in elderly postmenopausal women presenting with primary hyperparathyroidism: a preliminary report*. *Osteoporos Int*. 1996; 6:329–333
45. Parker CR, Blackwell PJ, Fairbairn KJ, Hosking DJ. *Alendronate in the treatment of primary hyperparathyroid-related osteoporosis: a 2-year study*. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87:4482–4489
46. Eisman JA, Civitelli R, Adami S, Czerwinski E, Recknor C, Prince R, Reginster JY, Zaidi M, Felsenberg D, Hughes c, Mairon N, Masanauskaitė D, Reid DM, DElmas PD, Recker RR. *Efficacy and tolerability of intravenous ibandronate injections in postmenopausal osteoporosis: 2-year results from the DIVA study*. *J Rheumatol*. 2008; 35:488-97
47. Reid I, Brown J, Burckhardt P, Horowitz Z, Richardson P, Trechsel U, Widmer A, Devogelaer J, Kaufman J, Jaeger P, Body J, Brandi ML, Broell J, Di M, Genazzani A, Felsenberg D, Happ J, Hooper M, Ittner J, Leeb G, Mallmin H, Murray T, Ortolani S, Rubinacci A, Saaf M, Samsioe G, Verbruggen L, Meunier P. *Intravenous zoledronic acid in postmenopausal women with low bone mineral density*. *N Engl J Med*. 2002; 346:653-661
48. Adami S, Bevilacqua M, Brogginì M, Filippini P, Ortolani S, Palummeri E, Ulivieri F, Nannipieri F, Braga V. *Short-term intravenous therapy with neridronate in Paget's disease*. *Clin Exp Rheumatol*. 2002; 20:55-58
49. Adami S, Gatti D, Colapietro F, Fracassi E, Braga V, Rossini M, Tatò L. *Intravenous neridronate in adults with osteogenesis imperfecta*. *J Bone Miner Res*. 2003; 18:126-130
50. Gatti D, Antoniazzi F, Prizzi R, Braga V, Rossini M, Tatò L, Viapiana O, Adami S. *Intravenous neridronate in children with osteogenesis imperfecta: a randomized controlled study*. *J Bone Miner Res*. 2005; 20:758-763
51. Braga V, Gatti D, Colapietro F, Battaglia E, Righetti D, Prizzi R, Rossini M, Adami S. *Intravenous intermittent neridronate in the treatment of postmenopausal osteoporosis*. *Bone*. 2003; 33:342-345
52. Adami S, Gatti D, Bertoldo F, Sartori L, Di Munno O, Filippini P, Marcocci C, Frediani B, Palummeri E, Fiore CE, Costi D, Rossini M. *Intramuscular neridronate in postmenopausal women with low bone mineral density*. *Calcif Tissue Int*. 2008; 83:301-307

53. Bilezikian JP, Potts JT Jr, Fuleihan Gel-H, Kleerekoper M, Neer R, Peacock M, Rastad J, Silverberg SJ, Udelsman R, Wells SA. *Summary statement from a workshop on asymptomatic primary hyperparathyroidism: a perspective for the 21st century*. J Clin Endocrinol Metab. 2002; 87:5353-5361
54. Souberbielle JC, Maury E, Friedlander G, Cormier C. *Vitamin D and primary hyperparathyroidism*. J Ster Biochem Mol Biol. 2010; 121:199-203
55. Adami S, Viapiana O, Gatti D, Idolazzi L, Rossini M. *Relationship between serum parathyroid hormone, vitamin D sufficiency, age, and calcium intake*. Bone 2008; 42:267-270
56. Lo Cascio V, Adami S, Galvanini G, Cominacini L, Scuro LA. *The time course of a hypercalcaemic crisis in acute primary hyperparathyroidism*. Lancet 1984; 1:735-736.
57. Adami S, Mian M, Bertoldo F, Rossini M, Jayawerra P, O’Riordan JL, Lo Cascio V. *Regulation of calcium-parathyroid hormone feedback in primary hyperparathyroidism: effects of bisphosphonate treatment*. Clin Endocrinol. 1990; 33:391-397
58. Bilezikian JP, Khan AA, Potts JT. *Guidelines for the management of asymptomatic primary hyperparathyroidism: summary statement from the Third International Workshop*. J Clin Endocrinol Metab. 2009; 94:335-339.
59. Bone HG, Hosking D, Devogelaer JP, Tucci JR, Emkey RD, Tonino RP, Rodriguez-Portales JA, Downs RW, Gupta J, Santora AC, Liberman UA (2004) *Ten years’ experience with alendronate for osteoporosis in postmenopausal women*. N Engl J Med. 350:1189–1199.
60. Adami S, Bianchi G, Brandi ML, Giannini S, Ortolani S, DiMunno O, Frediani B, Rossini M; BONTURNO study group. (2008) *Determinants of bone turnover markers in healthy premenopausal women*. Calcif Tissue Int. 82:341-347.
61. Rossini M, Magdali Bongi S, LaMontagna G, Minisola G, Malavolta N, Bernini L, Cacace E, Sinigaglia L, DiMunno O, Adami S. (2011) *Vitamin D deficiency in rheumatoid arthritis: prevalence, determinants and association with disease activity and disability*. Arth Res Ther (in press)
62. Lo Cascio V, Adami S, Galvanini G, Cominacini L, Scuro LA. (1985) *Substrateproduct relation of 1-hydroxylase activity in primary hyperparathyroidism*. N Engl J Med. 313:1123 – 5
63. Bollerslev J, Jansson S, Mollerup CL, Nordenström J, Lundgren E, Tørring O, Varhaug JE, Baranowski M, Aanderud S, Franco C, Freyschuss B, Isaksen GA, Ueland T, Rosen T. (2007) *Medical observation, compared with parathyroidectomy, for symptomatic primary hyperparathyroidism: a prospective, randomized trial*. J Clin Endocrinol Metab. 92:1687-92.
64. Steedon SJ, Cunningham J (2005) *Calcimimetic and calcilytics—fooling the calcium receptor*. Lancet 365:2237–2239