

PATOGENEZA HIPERKALCEMIJE

Svetozar S. Damjanović

Paraštitaste žlezde preko paratiroidnog hormona (PTH) regulišu nivo serumskog kalcijuma i metabolizam u kostima. Za uzvrat, koncentracija kalcijuma u serumu reguliše sekreciju PTH. Tako, visoka koncentracija kalcijuma u serumu suprimuje sekreciju PTH, dok je niska kalcemija stimuliše. Promene u koncentraciji kalcijuma se registruju unutar nekoliko sekundi preko kalcijum-osetljivog receptora na ćelijama paraštitaste žlezde. Receptor pripada grupi receptora sa sedam transmembranskih delova kao što su receptori za svetlost, kateholamine itd. Smatra se da sekrecija PTH doseže polovinu maksimuma kada koncentracija jonizovanog kalcijuma padne na 1 mmol/L. Brze promene u sekreciji PTH su moguće zahvaljujući depoima hormona u sekretornim granulama, dok je za produženu sekreciju potrebna sinteza hormona kao i sinteza informacione ribonukleinske kiseline (iRNK). Vitamin D i njegovi metaboliti, 25-hidroksivitamin D i 1,25 dihidroksivitamin D preko svojih receptora u citosolu ćelija paraštitastih žlezdi suprimuju sintezu iRNK pa samim tim i sintizu PTH, nasuprot ovome hipokalcemija stimuliše sintezu iRNK za PTH. Vitamin D i njegovi metaboliti inhibiraju rast ćelija paraštitaste žlezde, dok ga hipokalcemija stimuliše.

Paratiroidni hormon se sekretuje kao peptid sa 84 aminokiseline, a biološku aktivnost ostvaruje preko svog amino-terminalnog dela molekula (1-34). Efekti PTH na metabolizam kalcijuma se ostvaruju preko specifičnih receptora za paratiroidni hormon (tip 1 receptora). Ciljni organi za PTH su kost, bubreg i crevo. Homolog paratiroidnog hormona je i „PTH – related peptide” (PTHrP), koji se sintetise u hrskavici i mnogim drugim tkivima, ali čija sekrecija nije regulisana nivoom kalcijuma. Ovaj peptid se vezuje takođe za tip 1 receptore ostvarujući iste efekte kao i sam PTH.

Hiperkalcemija

Hiperkalcemija je uvek znak ozbiljnog oboljenja i zahteva temeljnu obradu pacijenta radi utvrđivanja etiologije bolesti. Daleko najčešće, u preko 90% slučajeva se javlja u bolestima sa poremećenom sekrecijom PTH i kao manifestacija maligne bolesti (paraneoplastični sindrom). Mnogo ređe, hiperkalcemija je posledica intoksikacije vitaminom D odnosno poremećaja metabolizma vitamina D. Ubrzani promet u kostima kao i renalna insuficijencija su takođe uzroci hiperkalcemije. Ovde će biti uglav-

Instytut za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma,
Dr Subotića 13, 11000 Beograd

nom reči o hiperparatiroidizmu i genetskim poremećajima koji se javljaju u ovoj bolesti te o patogenezi hiperkalcemije u malignim bolestima.

Primarni hiperparatiroidizam

Većina pacijenata sa primarnim hiperparatiroidizmom ima povišen nivo totalnog kalcijuma u serumu, a skoro svi nivo jonizovanog kalcijuma. Stoga su nivo jonizovanog kalcijuma i neadekvatno normalan ili povišen nivo PTH glavni dijagnostički testovi za potvrdu primarnog hiperparatiroidizma.

Paraštitaste žlezde u primarnom hiperparatiroidizmu

Većina solitarnih adenoma kao i multiglandularni hiperparatiroidizam (hiperplazija i multipli adenomi) su mono- ili oligo-klonskog porekla, što ukazuje na nekontrolisani rast zbog germinalne ili somatske mutacije u tumorskoj prekursornoj ćeliji. Onkogeneza uopšte, je višestepeni proces u čijem toku dolazi do gomilanja genetskih grešaka. Verovatno i u slučaju adenoma paraštitaste žlezde dolazi do mutacije dva ili više gena. Najčešće mutiran gen je tumor supresorski gen *MENIN*. U oko 20% adenoma paraštitaste žlezde postoji inaktivirajuća mutacija u oba alela. Mnogo ređe se detektuje aktivacija protonkogena koji kodira ciklin D1 (*CCND1*). Radi se o pericentromeričkoj inverziji na hromozomu 11 kada visoko aktivni promotor gena za PTH dolazi neposredno iznad 5' kraja *PRAD 1* (*CCND1*) protoonkogena. Ove mutacije su praćene prekomernom ekspresijom ciklina D1, ali je interesantna činjenica da i u adenomima u kojima nema ove mutacije postoji prekomerna ekspresija ciklina D1. U skoro svim karcinomima paratiroidnih žlezdi mogu se uočiti delecije jednog alela, podrazumeva se i postojanje mutacije i u drugom alelu, timor-supresorskog retinoblastoma gena (*Rb*), (13q14). Kod karcinoma paratiroidne žlezde, produkt (protein) *Rb* gena ima drugačije imunohistohemijske karakteristike od normalnog produkta koji se detektuje kod zdrave paraštitaste žlezde i kod adenoma.

Abnormalne ćelije paraštitaste žlezde mogu imati poremećaj u funkciji kalcijum-osetljivog receptora na membrani ćelije ili u nekim slučajevima se ne ekspimiraju. Ovo je verovatno sekundarni fenomen i nije bitan za tumorsku transformaciju. Do sada u tumorski promenjenim paraštitastim žlezdama nisu pronađene inaktivirujuće mutacije u genima za vitamin D i kalcijum-osetljive receptore.

Sporadični primarni hiperparatiroidizam

Oko 85% pacijenata sa primarnim hiperparatiroidizmom ima solitarni adenom paraštitastih žlezdi. Multiglandularna bolest (hiperplazija, multipli adenomi i poliklon-

ska hiperfunkcija) je ređa i manje od 1% pacijenata ima karcinom paraštitaste žlezde. Oko 75% pacijenata sa primarnim hiperparatiroidizmom su žene. Godišnja incidenca ove bolesti je oko 8 na 100000. Faktori rizika za pojavu primarnog hiperparatiroidizma su zračenje i terapija litijumom (oko 5% pacijenata na hroničnoj terapiji litijumom ima primarni hiperparatiroidizam).

Nasledni sindromi sa primarniom hiperparatiroidizmom

Oko 20% pacijenata sa multiglandularnom bolešću ima hereditarnu formu bolesti i bilo koja forma kao npr. *multipla endokrina neoplazija tipa 1* (MEN 1) se može ispoljiti izolovanim primarnim hiperparatiroidizmom. Bolest je uzrokovana sekvencijalnom inaktivacijom *MENIN* gena (11q13). Pacijenti sa MEN 1 sindromom do svoje 40-e godine ispoljavaju primarni hiperparatiroidizam u 85%, Zollinger-Ellison-ov sindrom u 35%, prolaktinom u 25% slučajeva dok se drugi tumori se značajno ređe detektuju. Više paraštitastih žlezdi je uvećano (žlezda je do 5 puta veća od normalne), neoplazma je mono-oligo-klonskog porekla. Bolest se nasleđuje autosomno dominantno i u 90%. Paratiroidektomija je u 90% slučajeva uspešna.

Mutacije u *RET* protoonkogenu (10q11.2) praćene su konstitutivnom aktivnošću receptorske trozin-kinaze. Pored familijarnog medulskog karcinoma tiroidee koji je i signalni tumor multiple endokrine neoplazije tipa 2a (MEN 2a), u oko 50% pacijenata se detektuje feohromocitom a u oko 20 do 25% i primarni hiperparatiroidizam kao multiglandularna bolest. Oko 90% svih germinalnih mutacija u *RET* protoonkogenu se nalaze u egzonu X i XI, koji kodiraju ekstracelularni deo receptorske tirozin-kinaze koji je bogat cisteinom (kodoni 609, 611, 618, 620, 634). Od svih mutacija 80% je locirano u 634-om egzonu. Bolest se nasleđuje autosomno dominantno i u 90%. Paratiroidektomija je u 90% slučajeva uspešna.

Familijarna hipokalcirijska hipokalcemija (FHH) je bolest koja se takođe nasleđuje autosomno dominantno (hromozom 3). Uzrokovana je inaktivirajućom germinalnom mutacijom u jednom alelu koji kodira kalcijum-osetljivi receptor što paraštitaste žlezde čini neosetljivim na kalcijum koji bi trebalo da inhibira sekreciju PTH i reapsorpciju kalcijuma u bubrežima. Ovde paratiroidektomija ne rešava problem, hiperkalcemija perzistira i ovi pacijenti imaju normalnu kalciurezu. Radi se o multiglandularnoj bolesti, paraštitaste žlezde su lako uvećane i postoji poliklonalnost.

Teški oblik neonatalnog primarnog hiperparatiroidizma nastaje kao posledica germinalnih inaktivirajućih mutacija u oba alela koji kodiraju kalcijumski receptor. Oboljenje je retko i potencijalno letalno, praćeno je hiperkalcemijom koja često prelazi 4 mmola/L. Više žlezdi je zahvaćeno, žlezde su velike i u osnovi je poliklonska proliferacija.

Jansen-ova bolest je posledica aktivirajuće mutacije u receptoru za PTH/PTHrP koja je praćena konstitutivnom aktivnošću receptora. Bolest se nasleđuje autosomno

dominantno. Klinički ovi pacijenti su niskog rasta i kratkih udova zbog poremećaja u okoštavanju i funkciji epifiznih hrskavica. Mogu imati i promene u kostima karakteristične za hiperparatiroidizam (multiple ciste). Laboratorijski pored hiperkalcemije i hipofosfatemije imaju praktično nemerljiv nivo PTH.

Hiperparatiroidizam udružen sa cemento-osifikujućim tumorom vilice (*Hyperparathyroidism - Jow Syndrome*) i renalnim cistama ili Wilms-ovim tumorom ili hamartomima bubrega je retka bolest. Pacijenti do svoje 40-e godine ispoljavaju primarni hiperparatiroidizam u oko 80% slučajeva i oko 10% ovih bolesnika ima karcinom paraštitaste žlezde. Karcinom paratiroidne žlezde se često detektuje i u *izolovanom porodičnom hiperparatiroidizmu*. Oba sindroma su uzrokovana mutacijama koje su mapirane na jednom mestu, lokus (*HRPT2*) i u istom regionu prvog hromozoma (1q25-q32). Najčešće se po prvi put operativno detektuje adenom jedne paraštitaste žlezde. Smatra se da je *HRPT2* tumor supresorski gen koji kodira protein parafibromin, i da inaktivirajuće mutacije dovode do pojave *Hyperparathyroidism - Jow* sindroma. Retko se nalazi više adenoma sinhrono, ali je moguće stvaranje adenoma sukcesivno tako da se ovi pacijenti mogu više puta naći na operacionom stolu. Obe bolesti su autosomno dominantne.

Hiperkalcemija kod malignih bolesti

Regulatori normalne funkcije osteoklasta

Osteoklasti potiču od granulocitno-makrofagne (CFU-GM) linije ćelija iz kostne srži. Stimulišući faktor kolonija makrofaga (M-CSF) i receptorski aktivator NF- κ B (RANK) ligand koji potiču iz stromalnih ćelija, su neophodni faktori za proliferaciju i diferencijaciju progenitornih ćelija i konačno njihovu fuziju u inaktivne osteoklaste. RANK ligand se vezuje za receptor na površini ćelija prekursora osteoklasta i potom signal ide preko NF- κ B (nuklearni kapa-B faktor). Većina faktora koji dovode do osteoporize ustvari deluju preko stromalnih ćelija kostne srži (PTHrP, IL-11, 1,25 dihidroksivitamin D) indukujući sintezu RANK liganda. Prekomerna aktivnost RANK liganda koja vodi do prekomerne diferencijacije osteoklasta i resorpcije kosti, blokira se produkcijom lažnog receptora za RANK ligand, osteoprotegerina (OPG) koji vezuje suvišak RANK liganda. OPG pripada TNF (*tumor-nekrosis* faktor) superfamiliji receptora i blokira fazu fuzije u diferencijaciji osteoklasta. Aktivirani osteoklasti imaju sposobnost resorpcije kosti, a po obavljenom zadatku podležu apoptozi koju indukuje TGF β (transformišući faktor rasta beta). Apoptozu osteoklasta indukuju i bisfosfonati.

Patofiziologija aktivacije osteoklasta kod karcinoma dojke

Destrukcija kosti kod pacijenata sa karcinomom dojke je posledica produkcije lokalnih faktora od strane tumorskih ćelija u kostnim metastazama. Aktiviranje osteo-

klasta je praćeno ne samo resorpcijom kosti već i oslobađanjem lokalnih faktora rasta kao što su TGF β , faktor rasta iz fibroblasta (FGF), insulinu slični faktori rasta (IGF), faktor rasta iz trombocita (PDGF) i morfogenih proteina kosti. Ovi za uzvrat stimulišu proliferaciju i rast tumorskih ćelija. Na ovaj način se uspostavlja začarani krug sa „pojaćavanjem” procesa resorpcije kosti ali i rasta tumorske mase. Glavni faktor iz tumorske ćelije koji stimuliše diferenciranje i aktivnost osteoklasta u karcinomu dojke je PTHrP, za koji se smatra da deluje deluje indirektno preko osteoblasta i stromalnih ćelija kostne srži koje imaju receptore za PTH/PTHrP. On indukuje sintezu RANK liganda koji stimuliše proces diferenciranja progenitornih ćelija u osteoklaste. Sami osteoklasti produkuju IL-6 koji ima moćno osteoklastogeno dejstvo. Destrukcija kosti je praćena sintezom TGF β i PDGF koji za uzvrat stimulišu sintezu PTHrP u metastatskim tumorskim ćelijama. Oko 50% karcinoma dojke produkuje PTHrP. Interesantno je da 90% kostnih metastaza i 70% visceralnih metastaza produkuje PTHrP. Prostaglandini, taćnije PGE2 indukuje sintezu RANK liganda i potencijalno stimuliše osteoklastogenezu. Ima dokaza da PGE2 imaju i direktne efekte na osteoklaste. Sve ovo je najćešće praćeno hiperkalcemijom.

Patofiziologija aktivacije osteoklasta u multiplom mijelomu

Faktori koji su „umešani” u patogenezu povećane aktivnosti osteoklasta u mijelomu su relativno skoro definisani. Razaranje kosti je nema sumnje uzrokovano povećanom osteoklastnom aktivnošću koja je uzrokovana lokalnom-parakrinom aktivnošću samog tumora. Na ovo ukazuje i činjenica da broj osteoklasta nije povećan u delovima kosti koji nisu zahvaćeni tumorom. Osteoklast-aktivirajućii faktori u mijelomu su brojni: TGF β , RANK ligand, IL-1 β , PTHrP, faktor rasta iz hepatocita, IL-6, metaloproteinaze (MMP1, MMP2, MMP9) i IGF-4. Po svemu sudećii i beta₂-mikroglobulin ima osteoklast aktivirajuću funkciju i pojaćava sve biološke efekte PTHrP, RANK liganda i 1,25 dihidroksivitamina D.

Za razliku od karcinoma dojke, kod pacijenata sa multiplim mijelomom postoji i smanjena osteoblastna aktivnost. Krajem prošle godine je pokazano da mutacije u genu koji kodira protein 5, srodan receptoru za lipoprotein niske gustine (LRPS) mogu imati dva fenotipa, osteoporozu i osteopetrozu. Ispostavilo se da je ovaj protein koreceptor za Wnt faktore rasta. Wnt faktori rasta se vezuju za istovremeno za sopstvene receptore i koreceptore LPRS5 ili LPRS6. Dalja transdukcija signala praćena je translokacijom β -katenina u jedro ćelije koji se vezuje za Wnt-responsivne elemente na DNK sa odgovarajućim biološkim efektom. Blokiranje receptora i/ili koreceptora za Wnt faktore rasta onemogućuje prenos signala i β -katenin ostaje u citoplazmi. Mijelomske ćelije produkuju dickkopf1 (DKK1) faktor, koji se vezuje za koreceptor i blokira Wnt transdukciju signala i aktivnost osteoblasta. Drugim rećima u plazmi i serumu pacijenata sa mijelomom kao i u bioptatu naćena je povećana koncentracija DKK1,

koji uz pomenutu povećanu osteoklastnu aktivnost zbog indukcije RANK liganda, atenuira funkciju osteoblasta. Na taj način je favorizovana resorpcija kosti i pojava osteopenije sa hiperkalcemijom.

Reference

1. Marx SJ: Hyperparathyroid and hypoparathyroid disorders. *The New Engl J Med*; 343:1863-1875, 2000.
2. Roodman DG: Biology of osteoclast activation in cancer. *J Clin Oncol*; 19:3562-3571, 2001.
3. Hu J, Spiegel A: Naturally occurring mutations of the extracellular Ca²⁺ - sensing receptor: implications for its structure and function. *Trends in Endocrinol Metab*; 14:282-288, 2003.
4. Carpten JD, Robbins CM, Villablanca A, et al.: HPRT2, encoding parafibromin, is mutated in hyperparathyroidism-jaw syndrome. *Nat Genetics*; 32:676-680, 2002.
5. Glass DA, II, Patel MS, Karsenty G: A new insight into formation of osteolytic lesions in multiple myeloma. *The New Engl J Med*; 349:2479-2480, 2003.