

# R eumatismo

Giornale ufficiale della Società Italiana di Reumatologia - SIR • Fondato nel 1949

**Syllabus 2016**

**Farmaci con effetti negativi sul  
metabolismo osteoscheletrico:  
conferme e nuove evidenze**



Società Italiana  
di Reumatologia

# REUMATISMO

Giornale ufficiale della Società Italiana di Reumatologia - SIR  
Fondato nel 1949



Società Italiana dell'Osteoporosi  
del Metabolismo Minerale e delle Malattie dello Scheletro

**Presidente SIOMMMS**

Claudio Marcocci

**Commissione editoriale**

Vania Braga  
Filomena Cetani  
Cristiana Cipriani  
Daniela Merlotti  
Andrea Palermo  
Luca Pietrogrande  
Lorenzo Ventura

**Coordinatori**

Ombretta Di Munno  
Giovanni Iolascon



Sede Redazione "Reumatismo"  
Via Turati, 40 - 20121 Milano  
Tel. 02 65 56 06 77  
Fax 02 87 15 20 33  
e-mail: redazione@reumatismo.org  
Direttore Responsabile: L. Punzi (Padova)



© Copyright 2016 by Edizioni Medico Scientifiche - Pavia

Edizioni Internazionali srl  
Div. EDIMES - Edizioni Medico-Scientifiche - Pavia  
Via Riviera, 39 - 27100 Pavia  
Tel. 0382/526253 r.a.  
Fax 0382/423120  
E-mail: edint.edimes@tin.it

Autorizzazione Tribunale Milano n. 1735 del 23.11.1949 - Registro Nazionale della Stampa: registrazione in corso  
IT ISSN 0048-7449 - Spedizione in abbonamento postale 70% - Filiale di Milano

**In copertina**

Disegno anatomico di Leonardo da Vinci dalla Collezione Windsor®.  
Riprodotta per la gentile concessione di S.M. la Regina Elisabetta II.



- IV Prefazione  
Ombretta Di Munno

### Rassegne

---

- 1 Osteoporosi secondaria a mastocitosi  
*Mastocytosis-related osteoporosis*  
M. Rossini, O. Viapiana, I. Gavioli, G. Tripi, G. Orsolini, C. Caimmi,  
V. Campagnol, M. Risoli, R. Zanotti, D. Gatti
- 22 Farmaci anticoagulanti  
*Anticoagulants*  
D. Merlotti, L. Gennari
- 28 L-tiroxina  
*L-thyroxine*  
F. Cetani
- 35 Gastroprotettori  
*Proton-pump inhibitors*  
V. Braga
- 39 Diuretici  
*Diuretics*  
R. Caudarella, F.M. Ulivieri
- 52 Blocco ormonale nel carcinoma mammario e prostatico  
*Oestrogen and androgen deprivation therapy:  
an update on effects on bone and clinical indications*  
F. Bertoldo, A. Nardi, L. Ventura
- 60 FANS  
*NSAIDs*  
L. Pietrogrande, E. Raimondo
- 67 Farmaci antiretrovirali  
*Antiretroviral drugs*  
C. Cipriani
- 73 Farmaci ipoglicemizzanti  
*Antidiabetic agents*  
A. Palermo, G. Tabacco, A. Naciu, L. D'Onofrio

## Prefazione

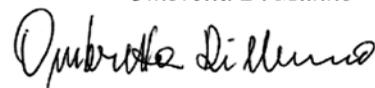
Questa edizione 2016 del Syllabus è dedicata con unanime consenso al ricordo del prof. Silvano Adami, che proprio in questo anno è scomparso lasciando un profondo vuoto, non solo nella sua famiglia e nei suoi allievi, ma anche nella comunità scientifica italiana e internazionale. Tutti coloro che a vario titolo si occupano di osteoporosi e di malattie del metabolismo minerale non potranno dimenticare i suoi insegnamenti, le sue acute intuizioni e le importanti ricerche svolte sempre con rigore scientifico ed esposte con lucida chiarezza, che lo hanno reso molto spesso il relatore più seguito e applaudito in numerosi convegni e congressi. Ma, oltre a questi riconoscimenti accademici, è l'aspetto umano, la sua carica di energia e di entusiasmo dei momenti non ufficiali, che solo coloro che hanno avuto il privilegio di essergli amici hanno potuto apprezzare, che rimarranno fra i ricordi più intimi e profondi. Come sentito ringraziamento al suo valore di studioso e di ricercatore, la commissione editoriale della SIOMMMS ha chiesto ai suoi allievi un contributo scientifico che arricchisse questa edizione. L'argomento proposto e accettato con entusiasmo è stato "Osteoporosi secondaria e mastocitosi", una patologia importante a cui spesso non si pensa ma che invece può esser la causa di

forme di osteoporosi non riconducibili ai comuni fattori di rischio.

Gli altri argomenti trattati si inseriscono nella tematica di farmaci che possono interferire sul metabolismo minerale osseo riducendo la massa ossea fino ad aumentare il rischio di frattura, alcuni dei quali con modalità inaspettate e talvolta ancora non completamente chiarite. Sono stati affrontati pertanto farmaci di comune e diffuso impiego, come gli anticoagulanti orali, i gastroprotettori, i FANS, la L-tiroxina, i farmaci ipoglicemizzanti, altri come i farmaci antiretrovirali meno diffusi, ma importantissimi per la svolta positiva che hanno dato alla storia naturale della malattia da HIV. Nell'impegno di dare le informazioni più complete, aggiornate e scientificamente valide, che contraddistingue questa commissione editoriale, per alcuni argomenti come i diuretici e la terapia ormonale adiuvante del carcinoma mammario e prostatico ci siamo avvalsi di colleghi che non fanno parte della commissione stessa, ai quali va il nostro profondo ringraziamento per il loro impegno.

Come sempre ci auguriamo di aver fatto un buon lavoro e che anche questa edizione possa contribuire ad arricchire il bagaglio culturale e clinico soprattutto dei colleghi più giovani.

*Ombretta Di Munno*



# Osteoporosi secondaria a mastocitosi

## *Mastocytosis-related osteoporosis*

M. Rossini<sup>1</sup>, O. Viapiana<sup>1</sup>, I. Gavioli<sup>1</sup>, G. Tripi<sup>1</sup>, G. Orsolini,<sup>1</sup> C. Caimmi<sup>1</sup>,  
V. Campagnol<sup>1</sup>, M. Risoli<sup>1</sup>, R. Zanotti<sup>2</sup>, D. Gatti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sezione di Reumatologia;

<sup>2</sup>Sezione di Ematologia, Dipartimento di Medicina, Università di Verona, Policlinico Borgo Roma, Verona

### SUMMARY

Osteoporosis is one of the most frequent manifestations of systemic mastocytosis, particularly in adults. Osteoporosis secondary to systemic mastocytosis is a cause of unexplained low bone mineral density that should be investigated when accompanied by suspicious clinical elements. The mechanism of bone loss is the result of different pathways. The main actor is the osteoclast with a relative or absolute predominance of bone resorption. Among the stimuli that drive osteoclast activity the most important one seems to be the RANK-RANKL signaling, but other cytokines play a significant role in the process. Currently zoledronate has the best evidence in terms of gain in bone mineral density and bone turnover suppression, two surrogate markers of anti-fracture efficacy.

*Reumatismo, 2016; 68 (S3): 1-21*

### ■ DEFINIZIONE ED EPIDEMIOLOGIA DELLA MASTOCITOSI

La mastocitosi è una rara patologia caratterizzata da un'anormale proliferazione dei mastociti ed un'ampia gamma di manifestazioni cliniche che interessano diversi tessuti e organi, con un prevalente coinvolgimento midollare e cutaneo (1).

Questa abnorme proliferazione è guidata da numerosi mediatori, tra i quali lo stem cell factor (SCF) ricopre il ruolo più importante e agisce attraverso il recettore transmembrana KIT, mutato in almeno l'80% dei pazienti (2).

La mastocitosi può colpire qualunque età. Nell'infanzia si manifesta generalmente come mastocitosi cutanea (MC), senza interessamento sistemico e con una buona prognosi: la maggior parte dei bambini va incontro a risoluzione o attenuazione delle lesioni cutanee una volta divenuto adolescente (3). La maggior parte dei pazienti adulti è invece affetta da mastocitosi sistemica (MS), che presenta più frequentemente decorso cronico ed è definita dal coinvolgimento di malattia in sede extra-cutanea, in particolare: ossa, tratto gastrointestinale, linfonodi e milza (1, 4, 5). La prognosi, in

questi casi, è variabile spazia da forme indolenti, a smouldering ad altre che possono compromettere la vita (6).

Sebbene ad oggi non siano stati riportati gli esatti valori di incidenza e prevalenza, la mastocitosi è considerata una patologia rara (1). Va comunque segnalato un aumento dei nuovi casi in Europa e negli Stati Uniti nelle ultime due decadi, probabilmente a seguito di una migliorata capacità diagnostica (1). La prevalenza stimata della mastocitosi sistemica nella popolazione generale in Europa è fra 0,5 e 1 per 10,000 abitanti, anche se questo dato è probabilmente sottovalutato (1, 7).

Il rapporto maschi/femmine riportato varia da 0,8% a 1,5% (8). Si tratta, nella maggior parte dei casi, di forme sporadiche, ma sono state descritte anche rare forme familiari (9).

### ■ I MASTOCITI

I mastociti sono cellule di media dimensione, localizzate principalmente negli spazi perivascolari di tutti i tessuti, facilmente riconoscibili per i loro granuli intracitoplasmatici che risultano metacromatici alla colorazione con Giemsa o blu di Toluidina (10). Questi granuli contengono molteplici

Indirizzo per la corrispondenza:  
M. Rossini  
E-mail: maurizio.rossini@univr.it

mediatori proinfiammatori e vasoattivi, che vengono rilasciati quando allergeni o altri stimoli causano il cross linking dei recettori per le IgE (11). La completa attivazione dei mastociti ha luogo in tre fasi conseguenti (12). La prima generalmente avviene in qualche secondo con la degranulazione di mediatori presintetizzati: istamina, triptasi e altre proteasi, proteoglicani (eparina, condroitin solfati) e citochine (TNF- $\alpha$ , IL-4, SCF e FGF) (12). Nella seconda fase, i mastociti sintetizzano e rilasciano nell'arco di minuti mediatori lipidici derivati dalle membrane, i.e. prostaglandine, leucotrieni e fattore attivante le piastrine (PAF) (13, 14). Nella terza fase, che avviene dopo un lasso di tempo che varia fra minuti e ore dalla prima attivazione, i mastociti sintetizzano un grande numero di citochine proinfiammatorie (di nuovo il TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-5 e IL-13).

I mastociti sono derivati da progenitori ematopoietici multipotenti CD34+ (10). Tali progenitori risiedono nel midollo osseo e nel sangue periferico e possono transmigrare attraverso l'endotelio in vari tessuti, comprese la pelle, i polmoni e le interfacce mucose, prima di assumere specifici fenotipi, determinati dal microambiente locale (6). In particolare la crescita e la differenziazione dei mastociti sono stimulate da SCF, ligando per KIT (CD117), un recettore transmembrana dotato di attività tirosin-chinasica intrinseca, espresso costitutivamente dai mastociti e dai loro progenitori (15-17). Di fatto, nel corso della differenziazione dei progenitori ematopoietici in cellule mature, l'espressione di KIT è ridotta in tutte le linee cellulari, eccezion fatta per i mastociti, che mantengono elevati livelli di espressione in superficie di KIT.

La mutazione di *KIT* più frequentemente associata con la mastocitosi è una mutazione somatica puntiforme, la D816V (Asp816Val), che ne determina gain-of-function (18). Questa mutazione del proto-oncogene *KIT* permette l'auto-fosforilazione costitutiva di KIT, che rende superfluo il legame di un ligando per la sua attivazione (19). In queste condizioni, i mastociti vanno incontro a una proliferazione incontrollata e un'aumentata sopravvivenza che

possono contribuire alla patogenesi della malattia (20).

Di conseguenza, l'espansione clonale anormale dei mastociti e la loro aggregazione a livello tissutale può influenzare la risposta a stimoli endogeni o esogeni in uno o più tessuti. La caratteristica patognomonica della mastocitosi è la presenza di cluster multifocali di mastociti alterati. In contrapposizione con i normali mastociti, le mastocelle della mastocitosi hanno morfologia differente, con forme che variano da rotondeggianti a fusiformi con lunghi, polarizzati processi citoplasmatici, talvolta con ridotti e più piccoli granuli citoplasmatici distribuiti in modo disomogeneo, o con atipici nuclei con aspetto monocitoide (21).

## ■ LA TRIPTASI

La triptasi è l'enzima presintetizzato più rappresentato nei granuli secretori dei mastociti ed è dotato di attività serin-proteasica (22). La triptasi è prodotta pressoché esclusivamente dai mastociti, con l'eccezione di una piccola quantità di derivazione dai basofili, ed è quindi considerata il marcatore delle malattie mediate dai mastociti (23).

Le triptasi  $\alpha$  e  $\beta$  sono codificate da due geni, situati a livello del braccio corto del cromosoma 16, e presentano un'omologia del 90% (24). In quanto zimogeni, necessitano di un'attivazione tramite proteolisi per potersi assemblare nella forma tetramericamente matura ed esercitare la loro funzione (22). Questo processo avviene normalmente per la  $\beta$ -protriptasi, i cui tetrameri attivi vengono immagazzinati nei granuli secretori, assieme a proteoglicani (quali l'eparina) che ne stabilizzano la struttura (22). D'altra parte, la sintesi e la processazione dell' $\alpha$ -protriptasi risultano ostacolate a più livelli, dal momento che il gene codificante è frequentemente soggetto a mutazioni, che possono determinare un'alterazione della trascrizione, dell'attivazione, della conformazione del sito catalitico o addirittura una sua delezione (22). La protriptasi viene secreta dai mastociti cutanei non stimolati, contribuendo ai livelli sierici basali, mentre la triptasi matura è immagazzinata nei granuli dei mastociti in attesa di essere liberata (22, 23).

Sebbene la concentrazione plasmatica di triptasi venga considerata un indicatore della quantità e dell'attività dei mastociti nell'organismo, alcune delle variazioni genetiche sopracitate potrebbero alterare i livelli sierici basali di triptasi (22, 23).

Con il metodo di dosaggio corrente, il valore di triptasi sierica in soggetti adulti sani è mediamente 3,8 µg/L (22). Valori inferiori a 11,4 µg/L vengono considerati normali (22). I livelli sierici o plasmatici di triptasi risultano transitoriamente elevati nella maggior parte dei soggetti con anafilassi di grado severo e ipotensione (23). In corso di anafilassi da imenotteri il livello di triptasi raggiunge il picco massimo dopo 15-120 minuti dalla puntura e poi si riduce con un'emivita di 1,5-2 ore; l'istamina al contrario raggiunge il picco dopo 5 minuti e declina rapidamente a livelli basali entro 15-30 minuti (23). Per questo motivo la valutazione della triptasi, più che dell'istamina, può essere utilizzata per confermare la diagnosi d'anafilassi (con l'eccezione di alcune anafilassi da alimenti), purché il prelievo sia eseguito entro le prime ore dall'anafilassi e poi ripetuto a distanza di alcuni giorni (23). In caso di valori persistentemente elevati di triptasi dopo l'anafilassi, le linee guida dell'Organizzazione Mondiale dell'Allergia consigliano di avviare un percorso diagnostico per escludere la presenza di una forma di mastocitosi (25).

I pazienti con MC presentano valori di triptasi normali o solo lievemente aumentati. I livelli di triptasi misurati negli stadi precoci della malattia sistemica, quando la quantità di malattia è bassa, possono essere normali; poi aumentano nel tempo, nell'arco di mesi o anni, fino ad un quadro di malattia stabilizzata: da quel momento in poi i valori tendono a rimanere stabili, in assenza di progressione verso una forma più aggressiva di malattia (25).

In ogni caso, un aumentato livello di triptasi da solo non è patognomonico per MS, dal momento che può essere riscontrato in altre patologie come l'orticaria cronica, l'insufficienza renale, altre patologie ematologiche, l'oncocercosi, la cardiopatia ischemica o la presenza di anticorpi eterofili, oltre che nella già citata anafilassi (23).

Valori lievemente aumentati sono stati ritrovati anche nell'orticaria cronica (26).

Inoltre, secondo un recente studio (27), anche la valutazione dei livelli di triptasi nel midollo osseo potrebbe assumere un ruolo rilevante nella conferma diagnostica di mastocitosi sistemica, con un livello di cut off individuato a 50 µg/L.

## ■ CLASSIFICAZIONE DELLA MASTOCITOSI

Storicamente la mastocitosi è stata descritta come una patologia cutanea definita urticaria pigmentosa, caratterizzata da tipiche lesioni cutanee (28). Tuttavia, l'assenza di tali lesioni non esclude la presenza di una forma di mastocitosi sistemica (29).

La classificazione della mastocitosi risale al 1949, quando è stato descritto il primo caso con coinvolgimento degli organi interni (1). Si sono quindi susseguite numerose proposte classificative, fino alla "Year-2000 Working Conference on Mastocytosis", in occasione della quale sono stati valutati e selezionati i più affidabili parametri associati a malattia per utilizzarli come criteri diagnostici per mastocitosi e per discernere la variante cutanea e quella sistemica (30). La OMS ha confermato, prima nel 2001 e poi nel 2008, gli accordi raggiunti in tale occasione (31, 32).

Dunque, secondo la classificazione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, si possono distinguere due maggiori varianti della patologia:

- 1) mastocitosi cutanea;
- 2) mastocitosi sistemica con le sottovarianti: indolente, aggressiva e associata ad una patologia ematologica non mastocitaria (AMENM) (32).

### *Mastocitosi cutanea*

La mastocitosi cutanea è una patologia indolente e, per definizione, può essere diagnosticata solo quando la forma sistemica è stata esclusa con le indagini appropriate (30, 33). Negli adulti deve sempre essere eseguita una biopsia ossea che comprenda le analisi immunoistochimiche e molecolari che verranno in seguito descritte (10).

Il 65% dei casi di mastocitosi con coinvol-

gimento cutaneo insorge in età pediatrica, 85% dei quali tra la nascita e due anni di età, il restante 15% tra i 2 e i 15 anni (34). Il 35% dei casi compare in età adulta, generalmente tra 20 e 40 anni.

La forma più comune di MC e la prima forma di mastocitosi ad essere stata descritta viene definita urticaria pigmentosa (32). Si presenta con lesioni maculari, papulari o a placca rosso-brunastre che, dopo sfregamento, mostrano eritema e reazione pomfoide associati a prurito (segno di Darier) e talora a flushing. Le lesioni, ad insorgenza generalmente graduale, hanno dimensioni variabili, sono simmetricamente distribuite e possono interessare qualsiasi distretto cutaneo o mucoso, con maggior frequenza il tronco e raramente il volto e le regioni palmo plantari (28, 35, 36). In alcuni casi le lesioni possono avere un'evoluzione bollosa, cui segue una restituito ad integrum o una moderata iperpigmentazione. Si differenziano una forma large type, in cui le lesioni presentano diametro >0,5 cm, ed una forma small type, con lesioni di diametro <0,5 cm, che presenta un maggior rischio di persistenza in età adulta. Il 50-80% va incontro a completa remissione spontanea durante l'adolescenza (35). Nell'adulto le lesioni sono generalmente monomorfe, small type. Una variante di UP di rara osservazione è rappresentata dalla teleangectasia macularis eruptiva perstans (TMPE), con manifestazioni cutanee molto sfumate caratterizzate da macule eritematose o lievemente ipercromiche con teleangectasia e segno di Darier incostantemente positivo. Al contrario delle altre forme, la TMPE è più frequente nell'età adulta.

Il mastocitoma cutaneo interessa quasi esclusivamente l'età pediatrica comparando solitamente nei primi tre mesi di vita; può essere singolo o più raramente multiplo (34). Si presenta come placca o nodulo di 1-5 cm con superficie liscia o a buccia d'arancia ed un colore che varia dal giallastro al bruno. Si localizza prevalentemente al tronco ma anche ad estremità, testa e collo. Il segno di Darier è spesso intensamente positivo e frequentemente si associa a ricorrente formazione di bolle, a flushing generalizzato e

talora ipotensione. Le lesioni tendono con il tempo ad attenuarsi, sino a regredire completamente prima dell'adolescenza.

La MC diffusa è la variante più rara (1-2% dei casi) e più grave; si presenta esclusivamente nei bambini, con insorgenza al di sotto dei 3 anni (32). Sono descritte due forme cliniche: la forma di più frequente osservazione si presenta con cute diffusamente infiltrata di colore giallastro e d'aspetto pastoso pseudo-xantomatoso, la forma più rara e con prognosi più grave si manifesta con lesioni bollose siero-emorragiche. Entrambe le forme possono complicarsi con quadri di eritrodermia. Sintomi sistemici sono frequenti e sono rappresentati da ipotensione, diarrea grave, disturbi gastrointestinali; vi è inoltre un rischio potenziale di shock o morte improvvisa da ipotensione dovuta alla degranolazione mastocitaria massiva (37). Le forme che presentano eruzioni bollose importanti hanno maggior rischio di evoluzione in MS.

### ***Mastocitosi sistemica***

La MS è attualmente classificata tra le neoplasie mieloproliferative croniche e comprende varie forme con presentazione clinica, tra cui quella osteoporotica (38) e prognosi eterogenee (32) (Tabella I).

In accordo con le Linee guida OMS, sono stati identificati un criterio maggiore e quattro minori per porre diagnosi di mastocitosi sistemica (32) (Tabella II). La mastocitosi sistemica è diagnosticata quando il criterio maggiore ed almeno un criterio minore sono soddisfatti o quando ne sono verificati almeno tre minori (32). Il criterio diagnostico maggiore è la presenza di infiltrati multifocali e compatti di mastociti in aggregati (>15 mastociti per cluster) identificati in campioni bioptici di midollo osseo o di altri organi extracutanei (32). La colorazione immunohistochimica con anticorpi anti-CD117 (KIT) e anti-triptasi è fortemente raccomandata (32). I criteri minori includono vari parametri morfologici, immunohistochimici, molecolari e bioumorali. Il primo è una morfologia anomala dei mastociti (>25% dei mastociti), inclusi mastociti di forma affusolata, con granulazione anomala o con proiezioni citoplasmatiche.

Segue la valutazione immunocitochimica del CD25 e/o del CD2, dal momento che questi antigeni vengono esposti in membrana solo dai mastociti neoplastici della MS e non dai mastociti reattivi. Anche la valutazione con citofluorimetria a flusso è un metodo sensibile e affidabile per identificare l'espressione aberrante di marker da parte delle mast cellule. Inoltre, una mutazione puntiforme attivante nel codone 816, specialmente la KIT D816V, è identificabile nella maggior parte dei pazienti con MS. Per concludere, anche il riscontro di valori sierici di triptasi persistentemente elevati (>20 ng/mL) è identificato come criterio minore (32).

La MS viene sottoclassificata in forma in-

**Tabella I** - Classificazione OMS della mastocitosi sistemica (2008).

Varianti	Sottovarianti
Mastocitosi Sistemica Indolente e sottovarianti (MSI)	Mastocitosi Sistemica Smouldering
	Mastocitosi Isolata del Midollo Osseo
Mastocitosi Sistemica con Associato Disordine Clonale Ematopoietico Non Mastcellulare (MS-AMENM)	Sindromi mielodisplastiche (MDS)
	Neoplasie Mieloproliferative (NMP)
	Leucemie mieloidi acute
	MDS/NPM
	Mieloma multiplo
Mastocitosi Sistemica Aggressiva	MS Linfadenopatica con eosinofilia
Leucemia Mastocitaria	Tipica
	Aleucemica
Sarcoma Mastocitario	
Mastocitoma Extracutaneo	

**Tabella II** - Criteri diagnostici OMS per la mastocitosi sistemica (32).

<b>Maggiore</b>	Infiltrati multifocali densi di mastociti in campioni biotici di midollo osseo o di altri organi extra-cutanei (>15 mastociti per cluster)
<b>Minori</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Mastociti con morfologia anormale (i.e. fusiforme) nel midollo osseo o in altri organi extra-cutanei (&gt;25%).</li> <li>2. Mutazione di KIT al codone 816 - in organi extra-cutanei.</li> <li>3. Espressione di CD2 e/o CD25 da parte dei mastociti del midollo osseo.</li> <li>4. Valori di triptasi sierica totale &gt;20 ng/ml - non valido in pazienti con variante AMENM.</li> </ol>

**Tabella III** - Classificazione OMS per la mastocitosi sistemica: Reperti B e C (32).

<b>Reperti B</b>	Infiltrazione di MC alla biopsia ossea >30% (focali, densi aggregati) e/o triptasi sierica >200 ng/ml.
	Midollo ipercellulare con dismielopoiesi o aspetti mieloproliferativi in assenza di criteri sufficienti per una diagnosi di Mielodisplasia o Neoplasia Mieloidica Cronica, con normali o lievemente alterate conte ematiche.
	Epatomegalia con funzione epatica normale e/o splenomegalia palpabile senza ipersplenismo e/o linfadenomegalie >2 cm palpabili o radiologiche.
<b>Reperti C</b>	Alterata funzione midollare con presenza di $\geq 1$ citopenia: Neutrofili <1000/ $\mu$ l; Hb <10 g/dl; Piastrine <100000/ $\mu$ l in assenza di altre patologie midollari non mastocitarie.
	Epatomegalia palpabile con alterata funzione epatica, ascite, e/o ipertensione portale.
	Splenomegalia palpabile con ipersplenismo.
	Malassorbimento con calo ponderale da infiltrazione GI da mastociti.
	Coinvolgimento scheletrico con larghe osteolisi e/o fratture patologiche.

dolente, smouldering o aggressiva sulla base della presenza o meno dei cosiddetti reperti B e C in accordo con la classificazione dell'OMS (Tabella III, Figura 1): si definisce indolente quando sono assenti i reperti C e presenti meno di due reperti B, smouldering quando sono presenti almeno due reperti B e assenti i reperti C e aggressiva quando sono presenti uno o più reperti C (32).

La diagnosi di leucemia mastcellulare si basa principalmente sulla presenza allo

striscio midollare di più del 20% di mastociti (32).

La MS indolente (MSI) è la forma più frequente, associata ad una buona prognosi ed una normale aspettanza di vita nella gran maggioranza dei pazienti; la probabilità di progressione della MSI in una forma più aggressiva riportata è dell'8,4% a 20 anni (40). Fattori predittivi indipendenti di progressione risultano essere la concentrazione plasmatica di  $\beta$ 2-microglobulina e

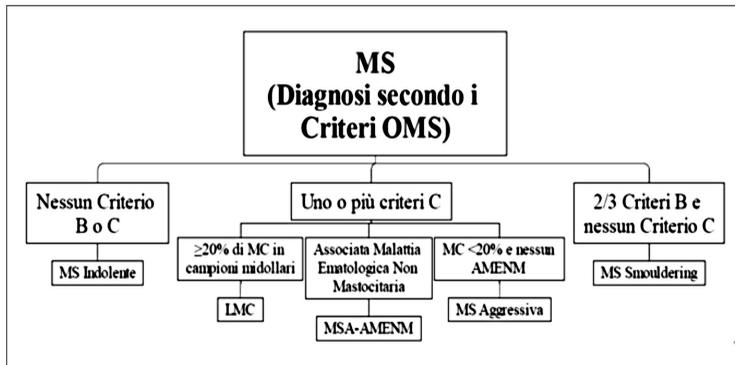


Figura 1 - Classificazione OMS della mastocitosi sistemica: varianti (39).

la presenza della mutazione D816V, oltre che nei mastociti, anche nella rimanente serie mieloide e linfoide (mutazione multilineale) (40). Un altro fattore prognostico negativo sembra essere rappresentato dalla regressione delle manifestazioni cutanee, descritta in casi d'evoluzione verso la forma di MS-AMENM (41).

La MS può essere diagnosticata in associazione con malattie ematologiche di linea non mastocitaria (MS-AMENM): circa l'80-90% di queste neoplasie associate sono disordini mieloidi, mentre le forme d'origine linfoide rappresentano solo il 10-20%.

La MS aggressiva (MSA), la MS-AMENM e la leucemia mastocitaria, sono associate ad una prognosi severa, con una sopravvivenza mediana riportata rispettivamente di 48, 24 e 2 mesi (18). I fattori prognostici per la sopravvivenza, oltre al sottotipo OMS, sono l'età avanzata, il calo ponderale, l'anemia, la trombocitopenia e l'eccesso di blasti (>5%).

L'assenza di manifestazioni cutanee fin dall'esordio era ritenuta più frequente nelle forme aggressive (30), mentre veniva ritenuta rara la variante MSI limitata al midollo osseo, da altri definita come MSI senza lesioni cutanee (42). In realtà le forme di MSI limitate al midollo osseo rappresentano una patologia sottostimata, che può essere prevalentemente diagnosticata in pazienti con episodi d'anafilassi, soprattutto da imenoterici, od osteoporosi non spiegata (8, 18, 43). Una forma molto rara di mastocitosi con coinvolgimento cutaneo e sistemico, non ancora inclusa nella classificazione dell'OMS, è la "MS ben differenziata" (42, 44, 45). Le

manifestazioni cutanee sono in genere di due tipi: forma a placche o nodulare (42). In queste forme il midollo presenta aggregati densi di mastociti a morfologia rotondeggiante e citoplasma fittamente granulato, triptasi positivo ('tryptase-positive round cell infiltration of bone marrow'- TROCI) (32) e con caratteristica assente espressione di CD25 e/o CD2. Nella maggior parte dei casi non è documentabile una mutazione di KIT o è presente una mutazione non coinvolgente l'esone 816, inoltre la triptasi spesso risulta inferiore a 20 ng/mL, con impossibilità a soddisfare un numero sufficiente di criteri per la diagnosi di MS (42). Il riconoscimento di tali forme, per quanto rare, è di fondamentale importanza per la loro ottima responsività all'inibitore delle tirosin-chinasi, Imatinib, cui sono invece resistenti le forme D816V mutate (44, 45).

Nei pazienti con sintomi severi da rilascio di mediatori in cui è presente a livello midollare almeno un criterio di clonalità (coespressione di CD25/CD2 e/o la presenza di mutazione del gene KIT), ma non vi siano criteri sufficienti per una diagnosi di MS, è possibile porre la diagnosi di una Sindrome da Attivazione Mastocitaria Monoclonale (SAMM) (43, 46, 47).

Per la restante parte della trattazione si prenderà in considerazione la sola forma sistemica.

## ■ MANIFESTAZIONI CLINICHE

I quadri clinici con cui la Mastocitosi sistemica si può presentare sono molteplici: da forme asintomatiche o pauci-sintomatiche a quadri severi da rilascio di mediatori o da deficit d'organo (9).

Le lesioni cutanee sono descritte nella maggior parte dei pazienti con MS, tuttavia le forme senza coinvolgimento cutaneo sono verosimilmente sottostimate (18) e caratterizzate da sintomi d'esordio peculiari come anafilassi da imenoterici, farmaci, alimenti o idiopatica (41, 43, 48), fratture (8) o sintomi gastrointestinali.

Si possono distinguere tre gruppi principali di manifestazioni cliniche: da rilascio di mediatori; sintomi costituzionali; da infiltrazione tissutale (Tabella IV) (9).

**Tabella IV** - Manifestazioni cliniche della MS (9).

<b>Sintomi da rilascio di mediatori (acuto e cronico)</b>	Fatigue, depressione, difficoltà d'attenzione e di concentrazione, cefalea
	Prurito, orticaria, vescicolazione, dermatografismo, flushing
	Iperensione, palpitazioni
	Diarrea, epigastralgia, crampi, dolori addominali, ulcera peptica
	Broncocostrizione, ipersecrezione bronchiale
	Mialgie, dolore osseo (da fratture su base osteoporotica)
<b>Sintomi costituzionali</b>	Episodi pre-sincopali, sincope, shock anafilattico
	Calo ponderale
	Febbre
<b>Sintomi da infiltrazione tissutale</b>	Sudorazioni profuse
	Epato e/o splenomegalia, ascite, malassorbimento
	Dolore da lisi ossee e/o fratture patologiche
	Linfoadenomegalia
	Anemia, piastrinopenia, leucopenia

Sia i sintomi costituzionali che le manifestazioni cliniche da infiltrazione tissutale sono presenti pressoché esclusivamente nelle forme aggressive.

I sintomi da rilascio di mediatori in alcuni pazienti sono molto modesti e talora assenti, mentre in altri sono severi o addirittura life-threatening e richiedono una terapia continua e, in alcuni casi, una terapia d'emergenza o un trattamento citoriduttivo. Nelle forme indolenti in genere non vi è stretta correlazione tra l'entità dei sintomi e i livelli di triptasi sierica.

I fattori scatenanti i sintomi da rilascio di mediatori sono elencati in Tabella V.

### ■ SOSPETTO DIAGNOSTICO DI MASTOCITOSI

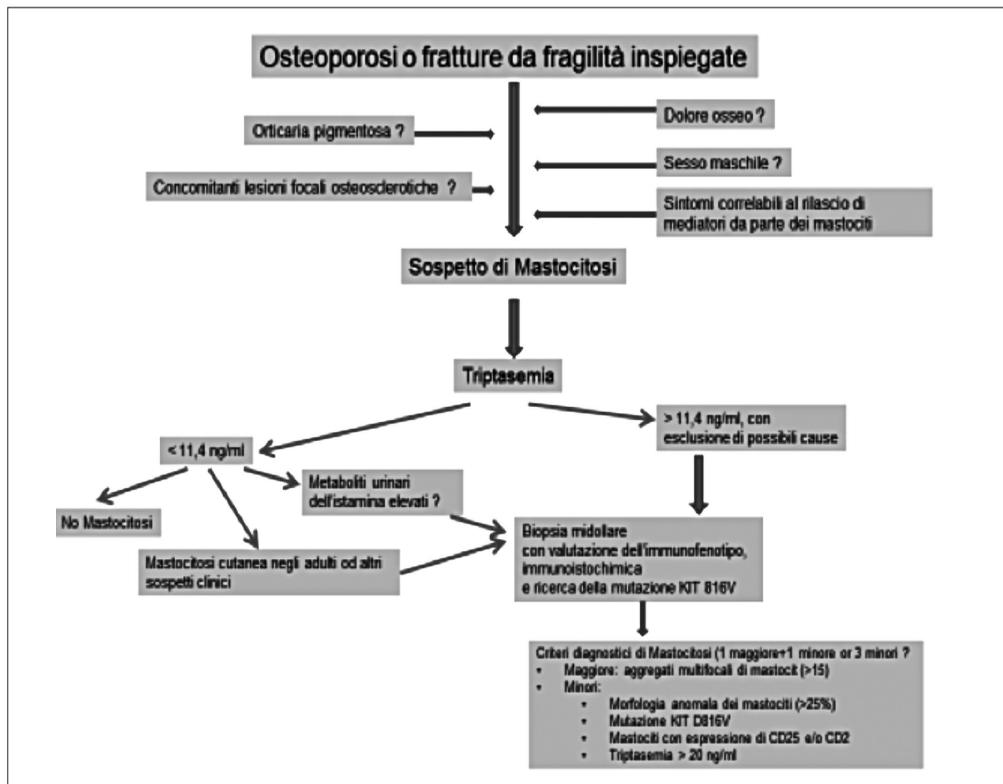
Il sospetto clinico per mastocitosi dovrebbe insorgere compatibilmente con la comparsa di segni e sintomi dovuti al rilascio di mediatori da parte dei mastociti e/o dopo il riconoscimento delle caratteristiche lesioni cutanee.

Comunque, la diagnosi non può basarsi esclusivamente sulla presenza dei sintomi. Prima di tutto, devono essere determinati i livelli di triptasi sierica, tenendo ben presente, come sopra spiegato, che tale reperto non risulta essere un elemento sufficiente. D'altro canto, l'osservazione che circa il 5% dei pazienti con mastocitosi sistemica indolente ha livelli di triptasi nella norma, suggerisce che questa valutazione può es-

sere usata come screening in casi selezionati di osteoporosi inspiegata, ma che un valore normale non è sufficiente ad escludere la diagnosi. Nei pazienti con sospetta mastocitosi ma con valori di triptasi sierica <11,4 µg/L, l'analisi dei mediatori urinari

**Tabella V** - Fattori che possono scatenare i sintomi da mediatori (9).

<b>Stimoli fisici</b>	Calore
	Freddo
	Pressione
	Sfregamento
<b>Fattori emozionali</b>	Stress
	Ansia
<b>Farmaci</b>	Acido acetilsalicilico
	Antiinfiammatori non steroidei
	Antitussigeni (codeina)
	Rilassanti muscolari impiegati nell'anestesia generale
	Induttori utilizzati nell'anestesia generale
	Anestetici locali
	α e β-bloccanti e antagonisti dei recettori colinergici
	Interferon-α
	Cladribina
	Molecole ad alto peso molecolare come il destrano
	Alcool
	Mezzi di contrasto iodati
	Punture di insetti imenotteri o (molto più raramente) ditteri
	Alimenti, pollini (raro)
	Esami endoscopici
	Interventi chirurgici



**Figura 2** - Flow-chart diagnostico di Mastocitosi in caso di osteoporosi o fratture da fragilità non altrimenti spiegate.

dell'istamina può essere d'aiuto nella diagnosi differenziale.

Il sospetto di mastocitosi localizzata nel midollo osseo, una variante della mastocitosi sistemica indolente senza lesioni cutanee, quale possibile causa di osteoporosi, è una delle possibili indicazioni all'esecuzione di una biopsia osteomidollare in presenza di elevata escrezione urinaria di metaboliti dell'istamina e di un valore di triptasi sierica nei range di norma.

Inoltre, l'assenza di orticaria o di angioedema nelle reazioni severe da punture di imenotteri con ipotensione può rappresentare il fattore più rilevante per identificare i pazienti con mastocitosi, indipendentemente dai livelli di triptasi sierica (49).

Comunque, la mastocitosi può essere identificata solamente con la verifica istologica e molecolare di materiale biotico, escluso il prelievo cutaneo. Dal momento che il midollo osseo è quasi sempre coinvolto,

la valutazione istopatologica della biopsia osteomidollare è cruciale per stabilire la diagnosi di mastocitosi sistemica, per valutare l'entità della componente mastocitaria e per escludere la presenza di patologie ematologiche (Figura 2).

## ■ CENNI DI TERAPIA DELLA MASTOCITOSI

Un approccio razionale al paziente con MS deve includere prima di tutto un adeguato counseling, comprendente informazioni dettagliate sulla malattia e sulle relative problematiche, rivolto, oltre che ai pazienti, ai parenti e ai medici coinvolti nella cura. Ai pazienti deve essere spiegato come evitare i fattori scatenanti la liberazione acuta dei mediatori; inoltre i soggetti a rischio particolare di episodi di ipotensione dovrebbero essere istruiti sull'utilizzo dell'adrenalina autoiniezzabile.

Un altro aspetto è il trattamento sintoma-

tico dei sintomi da rilascio acuto e cronico di mediatori. La terapia medica con anti-staminici anti-H1 è efficace nel ridurre il prurito e gli episodi di flushing nella maggior parte dei pazienti, mentre l'impiego degli anti-H2 (cimetidina, ranitidina) o degli inibitori di pompa protonica è indicato nei pazienti con interessamento gastrointestinale (50). L'impiego combinato degli anti-H1 e anti-H2 e/o del sodio cromoglicato è raccomandato per la profilassi degli episodi di ipotensione o delle reazioni anafilattoidi (50). Il sodio cromoglicato è efficace nel ridurre la sintomatologia gastrointestinale (dolori addominali, nausea, vomito e diarrea). L'uso dei corticosteroidi è invece controverso; in taluni casi può migliorare il controllo di alcuni sintomi sistemici, ma può contribuire alla frequente osteoporosi.

Un'immunoterapia specifica (ITS), nel caso di reazioni sistemiche al veleno di imenotteri, è stata per anni oggetto di discussione in seguito a segnalazioni di un rischio maggiore sia di reazioni allergiche sistemiche, sia d'inefficacia in questa tipologia di pazienti (51). Studi più recenti, effettuati su ampie casistiche, hanno invece dimostrato come l'ITS sia ben tollerata dai pazienti affetti da mastocitosi e costituisca un'efficace protezione alle reazioni allergiche gravi in seguito alle successive punture (52, 53). Si raccomanda di proseguire l'ITS per tutta la vita, data la segnalazione di reazioni fatali a puntura di imenotteri dopo la sospensione (51).

La fototerapia rappresenta una terapia di secondo livello in pazienti con mastocitosi con manifestazioni cutanee, sintomatici, che non hanno avuto beneficio dalla terapia con anti-mediatori. La PUVA terapia (psoraleni associati a radiazione ultravioletta A) con psoraleni sistemici o topici rappresenta la fototerapia impiegata da maggior tempo, i cui benefici (riduzione o scomparsa del prurito, riduzione o regressione totale delle lesioni cutanee), pur transitori, si mantengono a distanza di tempo (54). La somministrazione di fototerapia UVA1 ottiene un beneficio soggettivo, ma minore efficacia nella riduzione delle lesioni cutanee (55). Recentemente sono stati riportati risultati

positivi con l'utilizzo di fototerapia UVB a banda stretta (56).

Una terapia citoriduttiva è indicata nei pazienti affetti da leucemia mastocitaria, MSA, MS smouldering in progressione, mentre nella MSI è consigliata solo nei rari casi in cui ripetuti e frequenti sintomi severi da mediatori non siano controllabili con la terapia anti-mediatori. Nel caso di MS-AMENM il trattamento è in genere diretto alla forma più severa delle due malattie associate (33, 39).

I farmaci citoriduttivi di prima linea nel trattamento della MS a lenta progressione comprendono l'Interferone- $\alpha$  e la Cladribina (2-CdA), da utilizzare sempre associati a steroidi e anti-mediatori; entrambi sono in grado di indurre la remissione soltanto nel 40-50% dei pazienti. Nelle forme a rapida cinetica sono indicati schemi polichemioterapici, mentre ai soggetti di età giovane viene proposto il trapianto di midollo osseo. Anche l'Idrossiurea può essere utile nel controllo della malattia (39).

Tra gli inibitori delle tirosin-chinasi, l'Imatinib si è dimostrato efficace nelle rare forme con *KIT* non mutato o con alcune mutazioni di *KIT* diverse da quelle coinvolgenti l'esone 816; l'Imatinib è pure attivo nelle forme di MS associate a leucemia eosinofila cronica (39). Per quanto riguarda gli inibitori di *KIT* D186V: il Dasatinib in monoterapia ha dimostrato limitata efficacia nella MS, nonostante la promettente attività in vitro contro *KIT* D816V (57). D'altra parte la Midostaurina (PKC412) ha dimostrato un elevato tasso di risposte durature che sono associate con il miglioramento dei sintomi correlati alla malattia e della qualità della vita (58-60). Un nuovo farmaco, BLU-285, è un potente e selettivo inibitore del signalling di *KIT* D816V, in modelli preclinici (61). Questo e altri inibitori selettivi, attualmente in fase di studio preclinico, sono la promessa terapeutica di domani; inoltre, data la loro specificità di azione, potrebbero avere un profilo di tossicità minore (60). D'altra parte, sono stati effettuati sforzi per individuare altri bersagli molecolari da colpire con nuove strategie terapeutiche, tra i quali: BTK, il pathway di JAK/STAT, PI3K, CD30 e CD52 (60).

■ **COINVOLGIMENTO OSSEO DELLA MASTOCITOSI**

**Prevalenza**

Le manifestazioni scheletriche sono una dei più frequenti presentazioni della mastocitosi sistemica, particolarmente negli adulti, presentandosi in circa il 50% dei pazienti (62). I pazienti possono riferire dolore osseo scarsamente localizzato, osteopenia diffusa, osteoporosi con fragilità ossea o fratture patologiche, osteosclerosi diffusa, o lesioni focali miste osteolitiche o osteosclerotiche (63). Talora la clinica può essere completamente silente.

Studi recenti concordano affermando che l'osteoporosi sia la più frequente manifestazione del coinvolgimento osseo nella MS. Ad oggi, la descrizione dell'interessamento

osseo non include solo le manifestazioni cliniche, come le fratture, ma anche alterazioni di marker indiretti, come la densità minerale ossea, studiata con tecnica DXA (Dual X-ray Absorptiometry), i marker di turnover osseo (BTM, Bone Turnover Markers), quali la fosfatasi alcalina ossea, il C-telopeptide (CTX), l'osteocalcina (OC) e l'osteoprotegerina (OPG) (40, 62, 64-75).

In accordo con i criteri diagnostici tradizionali OMS (densità minerale ossea, T-score <-2,5) (76) la prevalenza dell'osteoporosi nei pazienti con mastocitosi sistemica indolente varia fra il 18 e il 31% (40, 63, 68, 70, 71) (Figura 3).

Tuttavia, dal momento che in questi studi erano inclusi anche i pazienti più anziani, la reale incidenza dell'osteoporosi secondaria alla MS non è chiara. In accordo con

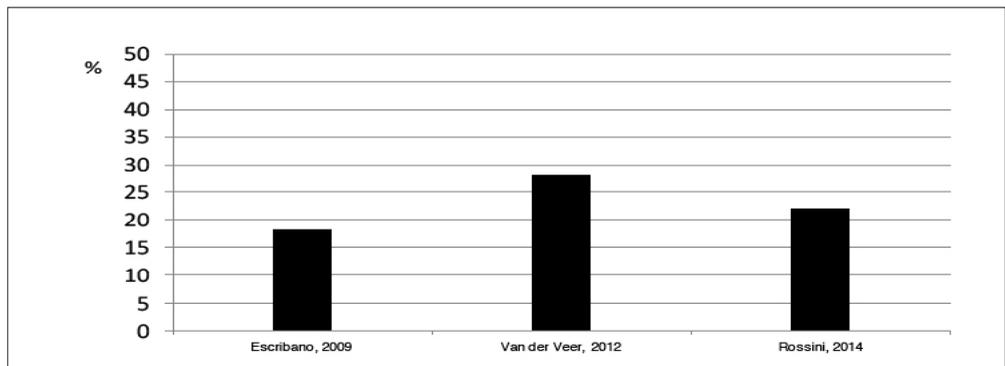


Figura 3 - Prevalenza dell'osteoporosi in pazienti con MSI (40, 49, 63,71, 76).

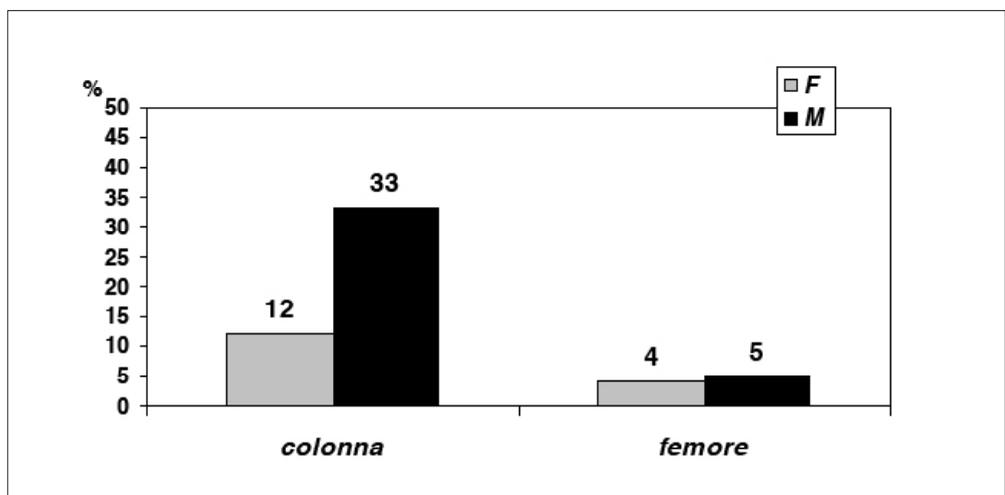


Figura 4 - Prevalenza della ridotta densità minerale ossea (BMD) correlata a mastocitosi (Z-score BMD <-2) in 199 pazienti (81 donne e 118 uomini) con MSI (63).

le linee guida della Società Internazionale per la Densitometria Clinica (77), utilizzando lo Z-score (deviazione standard rispetto al valore di riferimento di densità minerale ossea (bone mineral density, BMD) medio nella popolazione di pari età e sesso) con un valore soglia di  $<-2$ , bassi valori di BMD correlati alla mastocitosi sono stati riscontrati, con maggior accuratezza, nel 12% delle donne e nel 33% degli uomini con mastocitosi sistemica indolente (70) (Figura 4). La più alta prevalenza di osteoporosi negli uomini rispetto che nelle donne è stata recentemente confermata da altri studi (68). Bassi valori di BMD, definiti come Z-score  $<-2$ , sono stati riscontrati più frequentemente in sede lombare rispetto a quella femorale negli uomini (rispettivamente 33% vs 5%) (63) (Figura 4).

Uno dei caratteri distintivi dell'osteoporosi correlata alla mastocitosi è il dolore osseo, spesso debilitante, ed in particolare nei casi di coinvolgimento estensivo del midollo osseo (78). Tale caratteristica clinica dovrebbe instillare il sospetto per questa possibile causa secondaria di osteoporosi.

Frequentemente, il coinvolgimento osteoporotico nella mastocitosi sistemica è caratterizzato dalla presenza di lesioni focali ossee concomitanti, sia osteolitiche che osteosclerotiche (63); tuttavia, la prevalenza non è ben nota, dal momento che nella maggior parte degli studi non è stata eseguita una radiografia total body per ogni paziente. I dati al momento disponibili riguardanti la prevalenza dell'osteoporosi nella mastocitosi sistemica, con o senza lesioni cutanee, sono al momento inconsistenti. In un recente studio, Barete et al. (71) ha osservato che pazienti con mastocitosi sistemica senza coinvolgimento della cute avevano lo stesso rischio di sviluppare osteoporosi dei pazienti con lesioni cutanee. Anche nell'esperienza del nostro Ambulatorio Integrato (70), la prevalenza di ridotti valori di BMD era sostanzialmente sovrapponibile nei pazienti affetti MSI con o senza coinvolgimento cutaneo. Al contrario, in un'altra esperienza con pazienti con mastocitosi sistemica indolente (68) l'assenza di urticaria pigmentosa era stata identificata come

fattore predittivo indipendente per fratture da fragilità.

Inoltre, è stata riportata una più alta prevalenza di valori di BMD ridotti in un sottogruppo di pazienti con MSI senza una storia di anafilassi (70). Quindi l'osteoporosi potrebbe essere considerata l'unico segno di una forma latente di MSI, in assenza del caratteristico coinvolgimento cutaneo o di episodi di anafilassi. Di conseguenza, la prevalenza dell'osteoporosi secondaria a mastocitosi potrebbe essere sottostimata. Un quadro di osteoporosi ad eziologia inspiegata dovrebbe far sospettare la presenza di una forma di mastocitosi con coinvolgimento del midollo osseo. Attualmente, l'incidenza della MS nei pazienti con osteoporosi idiopatica non è conosciuta e può essere solo indirettamente stimata dai dati limitati riguardanti l'incidenza della mastocitosi sistemica nella popolazione generale (0,5-1 su 10.000 abitanti, probabilmente sottostimata) (1, 7).

In accordo con la più alta prevalenza di ridotti valori di BMD negli uomini in sede vertebrale, la prevalenza di almeno una frattura vertebrale è stata valutata del 20% negli uomini e del 14% nelle donne (63). Non infrequentemente, le fratture vertebrali erano multiple. Nella nostra esperienza, in più del 70% dei casi risultavano biconcave alla morfometria (63) (Figura 5).



**Figura 5** - Fratture vertebrali multiple biconcave tipiche (38).

In un recente studio (68) condotto su 157 pazienti (92 donne e 65 uomini, età media 54 anni), 83 di questi sono andati incontro a 235 fratture, di cui 140 secondarie a traumi di bassa entità: 87 localizzate alla colonna vertebrale e 53 non vertebrali, incluse 2 fratture a carico del bacino. L'età avanzata, il sesso maschile e il valore di metil istamina urinaria si sono dimostrati fattori predittivi indipendenti delle manifestazioni osteoporotiche (68). D'altra parte, in uno studio longitudinale (65) solo i livelli di acido metilimidazolo-acetico avevano un'associazione positiva significativa con nuove fratture osteoporotiche nell'analisi univariata, non confermato nell'analisi multivariata, forse perché i livelli di metaboliti urinari riflettono la popolazione mastocitaria solo in parte, o perché l'esposizione localizzata ai mediatori mastocitari ha una maggiore importanza rispetto all'effetto delle molecole circolanti.

Secondo un recente score, proposto da van der Veer (65), fattori di rischio indipendenti, predittivi del rischio fratturativo, sono il sesso maschile, elevati livelli del marker di riassorbimento osseo CTX (telopeptide C-terminale del collagene di tipo 1, Z-score  $\geq 1$ ), ridotti valori di BMD a livello femorale, assenza di orticaria pigmentosa e assunzione di alcol. Nella nostra esperienza, valori di triptasi sierica non possono essere considerati predittivi del coinvolgimento osteoporotico nei pazienti con MS (63).

### **Patogenesi**

La patofisiologia della perdita ossea nel contesto della mastocitosi non è compresa appieno. Persino nei casi in cui la densitometria ossea dimostra osteosclerosi si riscontra un aumentato turnover osseo (79). Il maggior coinvolgimento della colonna lombare rispetto al femore riflette una maggior perdita di osso trabecolare piuttosto che corticale. Questo è confermato dal fatto che la maggior parte delle fratture avviene a carico dei corpi vertebrali. Il prevalente coinvolgimento a carico dell'osso trabecolare è giustificato dalla maggiore attività metabolica e dalla colonizzazione preferenziale del midollo osseo da parte dei mastociti.

Ponendo l'attenzione sull'analisi istomorfologica, la biopsia ossea, ottenuta in alcuni pazienti con osteoporosi, mostrava che il numero di osteoclasti isolati era normale (80) o aumentato (66, 81-83). Recentemente, un'analisi istomorfologica ha dimostrato che la MSI è caratterizzata dal deterioramento della struttura ossea (diminuzione delle trabecole ossee) e dall'aumento di osteoide e del numero di cellule ossee (sia osteoblasti che osteoclasti) (66). Alcune caratteristiche morfologiche e istologiche, come la riduzione del numero e dello spessore delle trabecole, sono simili a quelle osservate nell'osteoporosi secondaria all'assunzione di glucocorticoidi. Questo potrebbe spiegare la caratteristica somiglianza alla morfometria delle fratture vertebrali (i.e. lente biconcava). In ogni caso, gli osteoblasti sono tipicamente ridotti dai glucocorticoidi. La mastocitosi sistemica indolente potrebbe essere associata con un aumentato turnover osseo e l'entità dell'attività delle cellule dell'osso dipenderebbe dal numero di mast cellule.

L'osteoporosi nella MS è stata attribuita sia all'infiltrazione di cellule neoplastiche, sia più probabilmente al rilascio locale di mediatori (istamina, eparina, triptasi, mediatori lipidici e citochine). In particolare, citochine come il TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-6 potrebbero svolgere un ruolo, stimolando l'attività osteoclastica o inibendo quella osteoblastica (84-86). In ogni caso, nella mastocitosi sistemica le manifestazioni cliniche sono prevalentemente dovute alla produzione cronica degli stessi mediatori chimici in assenza di uno stimolo. L'istamina è il mediatore chiave e il più rappresentato; essa esercita effetti stimolatori sugli osteoclasti e sui loro precursori attraverso vie di segnalazione autocrine e paracrine (87, 88). Un'ulteriore prova del ruolo dell'istamina nel rimodellamento osseo deriva da uno studio su un modello murino con mutazione knockout per il gene dell'istamina decarbossilasi, un enzima necessario alla sua produzione. Campioni istologici ottenuti da questi animali hanno mostrato un ridotto numero di osteoclasti e un'aumentata neoformazione ossea (89). È stata riportata una correlazione positiva fra i metaboliti dell'i-

stamina e il rischio di manifestazioni osteoporotiche (68). Curiosamente, i precursori osteoclastici sono stati identificati come la principale fonte di istamina. L'effetto sul riassorbimento è quindi correlato all'influenza diretta sugli osteoclasti e sui precursori degli osteoclasti, ma è presente anche un'azione indiretta mediata da un'aumentata espressione del ligando del recettore attivante il fattore nucleare  $\kappa$ -B (RANKL) da parte degli osteoblasti (86). RANKL, una volta legatosi al recettore RANK, ne determina l'attivazione e quindi la differenziazione osteoclastica, la stimolazione della funzione osteo-riassorbitiva e contemporaneamente l'inibizione dell'apoptosi. Questi dati hanno portato ad ipotizzare il possibile ruolo protettivo degli antagonisti dei recettori H1 e H2, dimostrato in alcuni studi in vivo (90-96). RANKL non solo è secreta dagli osteoblasti ma anche da altre cellule, incluse cellule stromali del midollo osseo. Queste cellule esprimono inoltre osteoprotegerina (OPG), una molecola solubile che funge da recettore decoy per RANKL e quindi come inibitore fisiologico del signalling mediato da RANK e RANKL. Alcuni autori hanno riportato un aumento dei livelli di OPG e RANKL nei pazienti affetti da mastocitosi, suggerendo un coinvolgimento della via di segnalazione RANKL/RANK/OPG nell'osteoporosi secondaria a mastocitosi (67, 73). I mastociti stessi producono RANKL e OPG (73, 97).

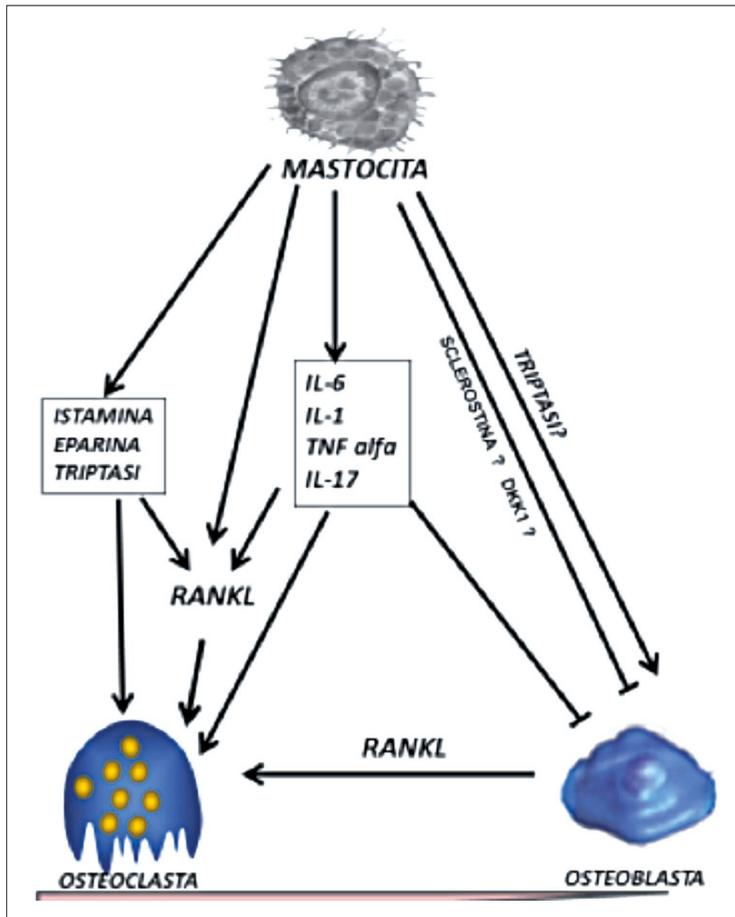
La via di segnalazione di Wnt non solo determina i livelli a valle di RANKL e OPG, ma gioca anche un ruolo determinante nella differenziazione delle cellule staminali mesenchimali. In assenza della  $\beta$ -catenina, queste cellule non differenziano in osteoblasti maturi ma in condrociti. Questa via di segnalazione promuove inoltre l'osteogenesi, sopprimendo l'adipogenesi, attraverso l'inibizione del PPAR $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor gamma). In alcune circostanze, una riduzione del signalling di Wnt potrebbe determinare un aumento dell'osteoclastogenesi e del riassorbimento osseo, riducendo l'espressione osteoblastica di OPG. La regolazione del pathway di Wnt nell'osso è prevalentemente dipendente dalla sintesi di inibitori come

Dickkopf-1 (DKK1) e Sclerostina (SOST). SOST è un regolatore della differenziazione tardiva fra osteoblasto e pre-osteocita; l'espressione di DKK1 è esclusiva degli osteoblasti e degli osteociti in maturazione. L'overespressione di SOST o DKK1 è associata con osteopenia o lesioni osteolitiche (98). Livelli aumentati di SOST (98) e DKK1 (73) sono stati recentemente riportati in pazienti con mastocitosi sistemica indolente, seppur i dati siano ancora inconsistenti. Questi risultati suggerirebbero che anche il pathway di Wnt/ $\beta$ -catenina potrebbe essere alterato nei pazienti con mastocitosi sistemica, con conseguente inadeguata formazione ossea, contribuendo ai ridotti livelli di densità minerale ossea. I livelli sierici di SOST sono risultati inversamente correlati con quelli di 25-idrossivitamina D, e questo potrebbe suggerire che i livelli di vitamina D influiscono sui livelli di SOST (62).

D'altra parte, la mutazione attivante D816V del recettore con attività tirosin-chinasica KIT, comunemente riscontrata nella MS, potrebbe correlare direttamente con il coinvolgimento osseo, dal momento che l'espressione di KIT è stata riscontrata anche negli osteoclasti che riassorbono l'osso. Addirittura, gli osteoblasti attivati (le cellule che neosintetizzano l'osso) potrebbero incrementare l'attivazione di KIT (86). In ogni caso, uno studio condotto da Broesby-Olsen et al. non ha trovato una correlazione tra i livelli di mutazione e i valori di Z-score (99). Per di più, non è ancora stato indagato se le mutazioni somatiche di KIT siano o meno presenti negli osteoblasti o negli osteoclasti.

L'eparina rilasciata dai mastociti potrebbe inoltre aumentare il riassorbimento osseo mediato dal PTH, attraverso la via di segnalazione di Wnt. Inoltre, un aumento nel PTH potrebbe causare il rilascio, da parte degli osteoblasti, di fattori che attivano la via di KIT, attivando pertanto i mastociti (100).

I mastociti potrebbero anche produrre citochine implicate nel rimodellamento tissutale (ad esempio TGF- $\beta$ , FGF e VEGF) (87), alcune delle quali potrebbero essere clinicamente rilevanti nei pazienti con ma-



**Figura 6** - Ipotesi patogenetica dell'iperattivazione osteoclastica e della inibizione o stimolazione osteoblastica in corso di Mastocitosi Sistemica.

stocitosi sistemica, determinando fibrosi a carico del fegato e del midollo osseo e contribuendo al turnover osseo.

L'attività di rimodellamento sistemica dell'osso può essere quantificata usando marker di turnover osseo, come l'isoenzima osseo della fosfatasi alcalina (bALP) o il CTX. Come precedentemente riportato (70), nei pazienti con manifestazioni osteoporotiche, i marker di turnover osseo sierici erano frequentemente nella norma, in alcuni casi aumentati (e in tali casi, erano associati con un'aumentata captazione ossea alla scintigrafia, compatibile con un quadro di superscan), o addirittura ridotti rispetto alla norma. Inoltre, nella nostra (70) ed in un'altra esperienza cross-sectional (66) nessuno dei marker di turnover ossei indagati era predittivo per fratture vertebrali in pazienti con MSI; di conseguenza, valori

normali di marker di turnover osseo non erano sufficienti ad escludere il rischio fratturativo. Considerata la limitazione intrinseca della valutazione di questi marker, essi non possono essere indicativi di lesioni ossee focali, ma possono essere sintomo di un incremento generalizzato nel turnover osseo e nel rimodellamento. Un'ipotesi è che, in presenza di normali marker di turnover osseo, non possa essere esclusa una locale alterazione fra l'attività osteoclastica e quella osteoblastica. Una spiegazione alternativa delle fratture, in pazienti che non mostravano alterazione dei marker di turnover osseo, potrebbe essere l'esposizione locale a mediatori mastocitari, senza effetti sistemici. Questi risultati potrebbero suggerire che l'osteoporosi secondaria a mastocitosi potrebbe essere caratterizzata da una prevalenza sia assoluta che focale dell'attività osteoclastica su quella osteoblastica.

Tuttavia, in un recente studio longitudinale (65), elevati valori di CTX sierico sono stati valutati come un fattore predittivo indipendente di future fratture patologiche nei pazienti con MSI. I livelli di CTX erano più elevati nei pazienti con MSA rispetto a quelli con le varianti indolente e cutanea (67), e correlavano significativamente con i livelli di triptasi sierica.

Nella nostra esperienza, nei pazienti con MSI, è stata evidenziata la correlazione fra livelli sierici di triptasi e valori di ALP isoenzima osseo (un marker di neoformazione ossea) (63), e livelli elevati di triptasi erano associati con osteosclerosi diffusa. Questa correlazione fra i livelli sierici di triptasi e i marker di turnover osseo, al pari di questi ultimi con l'aggressività della malattia, supporta la presenza di un collegamento fra il processo di rimodellamento osseo e il numero di mastociti (Figura 6).

#### **Trattamento dell'osteoporosi secondaria a mastocitosi**

Nel 1990, Graves et al. proposero di usare un farmaco che inibiva la degranolazione dei mastociti, il ketotifene, per aiutare a ridurre il dolore osseo e aumentare la densità minerale ossea, in un paziente con MS e una concomitante riduzione nei valori di

colecalfiferolo (101). Precedenti studi sul sodio cromoglicato, gli antistaminici e il fluoruro di sodio non hanno mostrato alcun risultato. Gli agenti chemioterapici, come il clorambucile e la mitramicina, hanno mostrato risultati variabili (102).

I bifosfonati, inclusi il Clodronato, l'Alendronato, il Pamidronato e l'Acido zoledronico, sono gli agenti di prima linea utilizzati nel trattamento dell'osteoporosi secondaria a mastocitosi (103) e hanno un ruolo nella terapia del dolore osseo refrattario (104-106). Il razionale, che giustifica l'impiego di questi farmaci anti-riassorbitivi, è costituito dal ruolo chiave rivestito dagli osteoclasti nella patogenesi. Persino in studi di ridotte dimensioni, i bifosfonati si sono dimostrati efficaci nell'aumentare i valori di massa ossea vertebrale, ma con minore miglioramento al collo femorale (69, 71, 72, 104, 106-108). Il primo contributo risale al 1987 (107), quando Cundy et al. hanno descritto una riduzione dei marker di turnover osseo in seguito a trattamento con Clodronato per os. Dieci anni dopo, Marshall et al. pubblicavano uno studio (106), condotto su tre pazienti, trattati con un'infusione annuale di Pamidronato, che mostrava un effetto positivo sulla densità minerale ossea in sede lombare e un leggero decremento a livello lombare. Anche Brumsen et al. (108) giungevano ad una simile conclusione pubblicando un case report sul trattamento con Pamidronato per via endovenosa in induzione e in seguito per os in mantenimento. Sono stati impiegati in casi isolati anche il Risedronato e l'Alendronato, senza una chiara valutazione nel follow-up (71). È stata documentata la risoluzione della sintomatologia algica dopo l'inizio del trattamento con bifosfonati in molti pazienti con MS, dolore osseo non spiegato ed osteopenia (91).

Il problema della scarsa compliance con il trattamento con bifosfonati per os è ben nota e documentata, e l'opportunità di una posologia più dilazionata nel tempo sarebbe molto apprezzata dai pazienti. Una possibile alternativa sarebbe il trattamento con Zoledronato 5 mg endovena. L'Acido zoledronico è un aminobifosfonato con un

ben documentato effetto positivo sulla densità minerale ossea e sul rischio fratturativo nei pazienti con osteoporosi postmenopausale e secondaria al trattamento con glucocorticoidi, per i quali viene somministrato annualmente. È impiegato anche in campo oncologico per il trattamento di metastasi ossee da tumori solidi e del mieloma multiplo, con un regime di somministrazione più intenso di 4 mg al mese. Il più frequente evento avverso è una reazione simil-influenzale, che generalmente segue solo la prima infusione. Nei pazienti con MSI, una infusione endovenosa di Zoledronato è stata documentata avere un effetto positivo sui marker di turnover osseo e sulla densità minerale ossea (surrogati di un'efficacia anti-fratturativa) per almeno un anno (72). L'aumento medio di densità minerale ossea è stato maggiore che con qualsiasi altro bifosfonato impiegato prima, sia in sede lombare che femorale. Comunque, l'efficacia anti-fratturativa dei bifosfonati deve ancora essere dimostrata da uno studio randomizzato a lungo termine. È interessante notare che, 1 anno dopo l'infusione di Zoledronato, i marker di turnover osseo continuavano ad essere soppressi (72). Per quanto riguarda l'osteoporosi post-menopausale, è nota la permanenza per almeno 5 anni degli effetti sui marker di turnover e sulla BMD di una singola infusione di 5 mg di Zoledronato (109) e la verosimile riduzione del rischio fratturativo oltre un anno dopo il trattamento (110).

In caso di osteoporosi severa, è inoltre ragionevole aggiungere un altro trattamento, come l'IFN  $\alpha$  che ha dimostrato efficacia in studi precedenti (69, 102, 111, 112).

Ipoteticamente, gli antistaminici impiegati dai pazienti per alleviare le vampate e il prurito potrebbero avere un piccolo ruolo nel contrastare gli effetti ossei dell'istamina. In generale, gli inibitori dei recettori H1 e H2 aumentano i livelli di calcitriolo, riducono il PTH e rallentano il riassorbimento osseo in modelli di topo ovariectomizzato (90, 100). Comunque, non è noto se gli H2-antagonisti abbiano un effetto inibitorio sull'assorbimento del calcio e, pertanto, determinino un effetto dannoso.

In conclusione, se si analizza la letteratura

fino ad oggi pubblicata in merito al trattamento dell'osteoporosi secondaria a mastocitosi, si denota lo scarso livello generale di evidenza riguardo l'efficacia di varie opzioni terapeutiche, dipendente dalla scarsità dei dati, particolarmente di quelli derivanti da trial randomizzati controllati, e dalla mancanza di dati derivanti da studi di lungo termine. Comunque, nella pratica clinica, in caso di osteopenia si raccomanda la supplementazione vitaminica D e calcica, quando necessaria; mentre in caso di osteoporosi è indicato il trattamento con aminobifosfonati, sia per os che endovena, sulla base di una certa efficacia nella riduzione dei marker di turnover osseo e della densità minerale ossea. Questi farmaci non sempre sono ben tollerati nei pazienti con MS, sia nella via di somministrazione orale, per il peggioramento dei sintomi a carico del tratto digestivo, sia endovena per le frequenti e severe risposte di fase acuta. Inoltre, l'effetto coda a lungo termine dei bifosfonati pone delle riserve specialmente in giovani pazienti, i.e. donne in età fertile (72, 113).

Nuovi approcci terapeutici confidano sull'impiego di altri trattamenti agenti sul metabolismo osseo. Negli anni passati, un farmaco biologico con azione anti-riassorbitiva, il Denosumab, è stato sviluppato per il trattamento dell'osteoporosi postmenopausale. Questo trattamento, sfrutta l'azione di un anticorpo monoclonale diretto contro RANKL, con la finalità di prevenire l'attivazione osteoclastica dipendente dalla via di segnalazione a valle di RANK/RANKL. È stato già spiegato nel corso di questa trattazione come questa via di segnalazione sia primariamente coinvolta nell'induzione dell'osteoporosi secondaria a mastocitosi, dal momento che è stato dimostrato che le mast cellule sintetizzano RANKL (73, 97). Quindi questo potrebbe essere il razionale per il trattamento dell'osteoporosi correlata a mastocitosi con anti-RANKL, e il Denosumab potrebbe essere un'alternativa percorribile, soprattutto in caso di intolleranza ai bifosfonati. Tuttavia, non è riportata alcuna esperienza clinica fino ad ora, e vi sono preoccupazioni riguardo il rischio di anafilassi. Un approc-

cio razionale, soprattutto in presenza di bassi livelli marker di neoapposizione ossea, potrebbe essere la stimolazione osteoblastica con Teriparatide, il frammento 1-34 attivo dell'ormone paratiroideo. In ogni caso, ad oggi, non è stata riportata alcuna esperienza con l'impiego di questo trattamento anabolizzante, e l'aumento di mastociti descritto nel coinvolgimento osseo secondario a iperparatiroidismo (114) insinua preoccupazione all'indicazione nella MS. Basandoci sulle conoscenze attuali, nella nostra opinione, l'uso della Teriparatide non dovrebbe essere proposto come un approccio alterativo nella gestione dell'osteoporosi secondaria a mastocitosi, dal momento che questo trattamento potrebbe aumentare la crescita e la proliferazione di mastociti anormali e indurre una forma più aggressiva di MS. Un altro possibile approccio terapeutico con agenti che promuovono l'osteosintesi potrebbe coinvolgere la via di segnalazione di Wnt, colpendo, ad esempio, DKK-1 o SOST, ma il loro ruolo esatto nella MS deve ancora essere confermato (115). Attualmente non c'è evidenza che i farmaci per l'osteoporosi abbiano un ruolo anche nei confronti dei mastociti. Farmaci citoriduttivi sono attualmente indicati sono in forme di MS avanzate e/o aggressive, ma questi agenti potrebbero essere anche considerati per pazienti con MSI affetti da osteoporosi severa con eventi rifratturativi nonostante il trattamento con aminobifosfonati, dopo un'attenta valutazione del rapporto rischi/benefici.

L'IFN- $\alpha$  è considerato l'agente citoriduttivo di prima linea: è stata dimostrata la sua capacità di migliorare i sintomi da mediatori rilasciati dalle mast cellule, una riduzione dell'infiltrazione del midollo osseo, e una riduzione dell'osteoporosi secondaria a mastocitosi, dell'ascite e dell'epatosplenomegalia, della citopenia, delle lesioni cutanee, benché i suoi effetti benefici siano correlati ad una tossicità significativa (116).

La Cladribina può essere impiegata nei pazienti con MS refrattari al trattamento con IFN- $\alpha$  (117).

Gli inibitori di tirosin chinasi sono un gruppo di farmaci indicati nelle forme aggress-

sive di MS, dal momento che agiscono su KIT (118); attualmente non ci sono dati riguardo il loro effetto sui marker di turnover osseo, sui valori di densità minerale ossea e sul rischio fratturativo. L'inizio tempestivo di una terapia che antagonizzi gli effetti dei

mediatori potrebbe revocare alcune alterazioni ossee correlate alla malattia (91), in ogni caso non ci sono ancora studi in merito. Nuove prospettive terapeutiche possono infine derivare dalla recente identificazione di nuove citochine.

#### RIASSUNTO

L'Osteoporosi è una delle manifestazioni più frequenti della Mastocitosi Sistemica (MS), in particolare negli adulti. La MS è causata non raramente da un'inspiegata bassa densità minerale ossea e da fratture, che meritano pertanto ulteriori accertamenti specie se associate a sintomi/segni clinici sospetti per MS. I meccanismi patogenetici sono molteplici. L'attore principale è l'osteoclasta, con una predominanza relativa o assoluta del riassorbimento osseo rispetto alla neoformazione. Tra i fattori patogenetici più importanti dell'iperattività osteoclastica vi è il RANKL, ma altre citochine sono probabilmente coinvolte. Attualmente lo Zoledronato rappresenta l'approccio terapeutico più documentato in termini di incremento della densità minerale ossea e di soppressione degli indici di turnover osseo, markers surrogati di efficacia anti-fratturativa.

#### ■ BIBLIOGRAFIA

- Valent P. Mastocytosis: a paradigmatic example of a rare disease with complex biology and pathology. *Am J Cancer Res.* 2013; 3: 159-72.
- Valent P. The riddle of the mast cell: kit(CD117)-ligand as the missing link? *Immunol Today.* 1994; 15: 111-4.
- Uzzaman A, Maric I, Noel P, Kettelhut B V, Metcalfe DD, Carter MC. Pediatric-onset mastocytosis: a long term clinical follow-up and correlation with bone marrow histopathology. *Pediatr Blood Cancer.* 2009; 53: 629-34.
- Sperr WR, Valent P. Diagnosis, progression patterns and prognostication in mastocytosis. *Expert Rev Hematol.* 2012; 5: 261-74.
- Lee JK, Whittaker SJ, Enns RA, Zetler P. Gastrointestinal manifestations of systemic mastocytosis. *World J Gastroenterol.* 2008; 14: 7005-8.
- Theoharides TC, Valent P, Akin C. Mast Cells, Mastocytosis, and Related Disorders. *N Engl J Med.* 2015; 373: 1884-6.
- Cohen SS, Skovbo S, Vestergaard H, Kristensen T, Møller M, Bindslev-Jensen C, et al. of systemic mastocytosis in Denmark. *Br J Haematol.* 2014; 166: 521-8.
- Zanotti R, Bonadonna P, Bonifacio M, Artuso A, Schena D, Rossini M, et al. Isolated bone marrow mastocytosis: an underestimated subvariant of indolent systemic mastocytosis. *Haematologica.* 2011; 96: 482-4.
- Zanotti R, Bonadonna P, Bonifacio M, Caruso B, Colato C, De Matteis G, et al. La mastocitosi sistemica: un approccio multidisciplinare. *Biochim Clin.* 2012; 36.
- Horny H-P, Sotlar K, Valent P: Mastocytosis: State of the Art. *Pathobiology.* 2007; 74: 121-32.
- Valent P, Sillaber C, Bettelheim P. The growth and differentiation of mast cells. *Prog Growth Factor Res.* 1991; 3: 27-41.
- Metcalfe DD. Mast cells and mastocytosis. *Blood.* 2008; 112: 946-56.
- Schwartz LB. Mediators of human mast cells and human mast cell subsets. *Ann Allergy.* 1987; 58: 226-35.
- Macpherson JL, Kemp A, Rogers M, Mallet AI, Toia RF, Spur B, Earl JW, et al. Occurrence of platelet-activating factor (PAF) and an endogenous inhibitor of platelet aggregation in diffuse cutaneous mastocytosis. *Clin Exp Immunol.* 1989; 77: 391-6.
- Kirshenbaum AS, Goff JP, Kessler SW, Mican JM, Zsebo KM, Metcalfe DD. Effect of IL-3 and stem cell factor on the appearance of human basophils and mast cells from CD34+ pluripotent progenitor cells. *J Immunol.* 1992; 148: 772-7.
- Rottem M, Okada T, Goff JP, Metcalfe DD. Mast cells cultured from the peripheral blood of normal donors and patients with mastocytosis originate from a CD34+/Fc epsilon RI- cell population. *Blood.* 1994; 84: 2489-96.
- Valent P, Spanblöchl E, Sperr WR, Sillaber C, Zsebo KM, Agis H, et al. Induction of differentiation of human mast cells from bone marrow and peripheral blood mononuclear cells by recombinant human stem cell factor/kit-ligand in long-term culture. *Blood.* 1992; 80: 2237-45.
- Lim K-H, Tefferi A, Lasho TL, Finke C, Patnaik M, Butterfield JH, et al. Systemic mastocytosis in 342 consecutive adults: survival studies and prognostic factors. *Blood.* 2009; 113: 5727-36.
- Akin C, Metcalfe DD. Systemic mastocytosis. *Annu Rev Med.* 2004; 55: 419-32.

20. Chatterjee A, Ghosh J, Kapur R. Mastocytosis: a mutated KIT receptor induced myeloproliferative disorder. *Oncotarget*. 2015; 6: 18250-64.
21. Stevens EC, Rosenthal NS. Bone marrow mast cell morphologic features and hematopoietic dyspoiesis in systemic mast cell disease. *Am J Clin Pathol*. 2001; 116: 177-82.
22. Vitte J. Human mast cell tryptase in biology and medicine. *Mol Immunol*. 2015; 63: 18-24.
23. Schwartz LB. Diagnostic Value of Tryptase in Anaphylaxis and Mastocytosis. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2006; 26: 451-63.
24. Sommerhoff CP, Bode W, Pereira PJ, Stubbs MT, Stürzebecher J, Piechotka GP, et al. The structure of the human betaII-tryptase tetramer: fo(u)r better or worse. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96: 10984-91.
25. Simons FER, Arduoso LRF, Bilò MB, El-Gamal YM, Ledford DK, Ring J, et al. World Allergy Organization anaphylaxis guidelines: summary. *J Allergy Clin Immunol*. 2011; 127: 587-93.e1-22.
26. Ferrer M, Nuñez-Córdoba JM, Luquin E, Grattan CE, De la Borbolla JM, Sanz ML, Schwartz LB. Serum total tryptase levels are increased in patients with active chronic urticaria. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40: 1760-6.
27. Bulai Livideanu C, Apoil PA, Lepage B, Eischen M, Laurent C, Laharrague P, et al. Bone marrow tryptase as a possible diagnostic criterion for adult systemic mastocytosis. *Clin Exp Allergy*. 2016; 46: 133-41.
28. Nettleship E, Warren T. Rare forms of urticaria. *Brit Med J*. 1869; 2: 323-30.
29. Ellis JM. Urticaria pigmentosa; a report of a case with autopsy. *Arch Pathol*. 1949; 48: 426-35.
30. Valent P, Horny H-P, Escribano L, Longley BJ, Li CY, Schwartz LB, et al. Diagnostic criteria and classification of mastocytosis: a consensus proposal. *Leuk Res*. 2001; 25: 603-25.
31. Valent P, Horny HP, Li CY, Longley JB, Metcalfe DD, Parwaresch RM, Bennett JM. Mastocytosis (mast cell disease). In: World Health Organization (WHO) Classification of Tumours. Pathology & Genetics. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW Eds IARC Press Publ, Lyon. 2001; 291-302.
32. Horny HP, Akin C, Metcalfe DD, Bennet JM, Bain BJ, Akin C, Escribano L, Valent P. Mastocytosis. In: WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW Eds IARC Press Publ, Lyon. 2008; 54-63.
33. Valent P, Akin C, Escribano L, Födinger M, Hartmann K, Brockow K, et al. Standards and standardization in mastocytosis: consensus statements on diagnostics, treatment recommendations and response criteria. *Eur J Clin Invest*. 2007; 37: 435-53.
34. Ben-Amitai D, Metzker A, Cohen HA, Pediatric cutaneous mastocytosis: a review of 180 patients. *Isr Med Assoc J*. 2005; 7: 320-2.
35. Hartmann K, Henz BM. Cutaneous mastocytosis - clinical heterogeneity. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002; 127: 143-6.
36. Wolff K, Komar M, Petzelbauer P. Clinical and histopathological aspects of cutaneous mastocytosis. *Leuk Res* 2001; 25: 519-28.
37. Sethuraman G, Handa S, Radotra B, Kumar B. Diffuse cutaneous mastocytosis with bullae or bullous mastocytosis: a question of semantics. *Pediatr Dermatol Blackwell Science Inc*. 1999; 16: 409-11.
38. Rossini M, Zanotti R, Orsolini G, Tripi G, Viapiana O, Idolazzi L, et al. Prevalence, pathogenesis, and treatment options for mastocytosis-related osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2016; 27: 2411-21.
39. Valent P, Sperr WR, Akin C, Valent P, Akin C, Sperr W, et al. How I treat patients with advanced systemic mastocytosis. *Blood*. 2010; 116: 5812-7.
40. Escribano L, Alvarez-Twose I, Sánchez-Muñoz L, García-Montero A, Núñez R, Almeida J, et al. Prognosis in adult indolent systemic mastocytosis: a long-term study of the Spanish Network on Mastocytosis in a series of 145 patients. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 124: 514-21.
41. Brockow K, Scott LM, Worobec AS, Kirshenbaum A, Akin C, Huber MM, Metcalfe DD. Regression of urticaria pigmentosa in adult patients with systemic mastocytosis: correlation with clinical patterns of disease. *Arch Dermatol*. 2002; 138: 785-90.
42. Sánchez-Muñoz L, Alvarez-Twose I, García-Montero AC, Teodosio C, Jara-Acevedo M, Pedreira CE, et al. Evaluation of the WHO criteria for the classification of patients with mastocytosis. *Mod Pathol*. 2011; 24: 1157-68.
43. Bonadonna P, Perbellini O, Passalacqua G, Caruso B, Colarossi S, Dal Fior D, et al. Clonal mast cell disorders in patients with systemic reactions to Hymenoptera stings and increased serum tryptase levels. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 123: 680-6.
44. Akin C, Fumo G, Yavuz AS, Lipsky PE, Neckers L, Metcalfe DD. A novel form of mastocytosis associated with a transmembrane c-kit mutation and response to imatinib. *Blood*. 2004; 103: 3222-5.
45. Akin C, Escribano L, Nuñez R, Garcia-Montero A, Angulo M, Orfao A, Metcalfe DD. Well-differentiated systemic mastocytosis: new disease variant with mature mast cell phenotype and lack of codon 816 c-Kit mutations. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 113: S327.
46. Sonneck K, Florian S, Müllauer L, Wimazal F, Födinger M, Sperr WR, Valent P. Diagnostic and subdiagnostic accumulation of mast cells in the bone marrow of patients with anaphy-

- laxis: Monoclonal mast cell activation syndrome. *Int Arch Allergy Immunol.* 2007; 142: 158-64.
47. Alvarez-Twose I, González de Olano D, Sánchez-Muñoz L, Matito A, Esteban-López MI, Vega A, et al. Clinical, biological, and molecular characteristics of clonal mast cell disorders presenting with systemic mast cell activation symptoms. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 125: 1269-78.e2.
  48. Bonadonna P, Zanotti R, Pagani M, Caruso B, Perbellini O, Colarossi S, et al. How much specific is the association between hymenoptera venom allergy and mastocytosis? *Allergy.* 2009; 64: 1379-82.
  49. Zanotti R, Lombardo C, Passalacqua G, Caimmi C, Bonifacio M, De Matteis G, et al. Clonal mast cell disorders in patients with severe Hymenoptera venom allergy and normal serum tryptase levels. *J Allergy Clin Immunol.* 2015; 136: 135-9.
  50. Mihm MC, Clark WH, Reed RJ, Caruso MG. Mast cell infiltrates of the skin and the mastocytosis syndrome. *Hum Pathol.* 1973; 4: 231-9.
  51. Bonadonna P, Zanotti R, Müller U. Mastocytosis and insect venom allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2010; 10: 347-53.
  52. de Olano DG, Álvarez-Twose I, Esteban-López MI, Sánchez-Muñoz L, de Durana MDAD, Vega A, et al. Safety and effectiveness of immunotherapy in patients with indolent systemic mastocytosis presenting with Hymenoptera venom anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121: 519-26.
  53. Bonadonna P, Zanotti R, Caruso B, Castellani L, Perbellini O, Colarossi S, et al. Allergen specific immunotherapy is safe and effective in patients with systemic mastocytosis and Hymenoptera allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121: 256-7.
  54. Godt O, Proksch E, Streit V, Christophers E. Short- and long-term effectiveness of oral and bath PUVA therapy in urticaria pigmentosa and systemic mastocytosis. *Dermatology.* 1997; 195: 35-9.
  55. Gobello T, Mazzanti C, Sordi D, Annessi G, Abeni D, Chinni LM, Girolomoni G. Medium- versus high-dose ultraviolet A1 therapy for urticaria pigmentosa: a pilot study. *J Am Acad Dermatol.* 2003; 49: 679-84.
  56. Prignano F, Troiano M, Lotti T. Cutaneous mastocytosis: successful treatment with narrowband ultraviolet B phototherapy. *Clin Exp Dermatol.* 2010; 35: 914-5.
  57. Verstovsek S, Tefferi A, Cortes J, O'Brien S, Garcia-Manero G, Pardanani A, et al. Phase II Study of Dasatinib in Philadelphia Chromosome-Negative Acute and Chronic Myeloid Diseases, Including Systemic Mastocytosis. *Clin Cancer Res.* 2008; 14: 3906-15.
  58. Gotlib J, Kluin-Nelemans HC, George TI, Akin C, Sotlar K, Hermine O, et al. Midostaurin (PKC412) demonstrates a high rate of durable responses in patients with advanced systemic mastocytosis: Results from the fully accrued global phase 2 CPKC412D2201 trial. *Blood.* 2014; 124.
  59. Gotlib J, DeAngelo DJ, George TI, Corless CL, Linder A, Langford C, et al. KIT Inhibitor Midostaurin Exhibits a High Rate of Clinically Meaningful and Durable Responses in Advanced Systemic Mastocytosis: Report of a Fully Accrued Phase II Trial. *Blood.* 2015; 116: 316.
  60. Gotlib J. Tyrosine Kinase Inhibitors and Therapeutic Antibodies in Advanced Eosinophilic Disorders and Systemic Mastocytosis. *Curr Hematol Malig Rep.* 2015; 10: 351-61.
  61. Evans EK, Hodous BL, Gardino A, Zhu J, Shutes A, Davis A, et al. First Selective KIT D816V Inhibitor for Patients with Systemic Mastocytosis. *Blood.* 2014; 124: 3217.
  62. Rossini M, Viapiana O, Zanotti R, Tripi G, Perbellini O, Idolazzi L, et al. Dickkopf-1 and sclerostin serum levels in patients with systemic mastocytosis. *Calcif Tissue Int.* 2015; 96: 410-6.
  63. Rossini M, Zanotti R, Viapiana O, Tripi G, Orsolini G, Idolazzi L, et al. Bone Involvement and Osteoporosis in Mastocytosis. *Immunol Allergy Clin NA.* 2014; 34: 383-96.
  64. Alpay Kanitez N, Erer B, Dog˘an Ö, Büyükbani N, Baykal C, Sindel D, Tanakol R, Yavuz AS. Osteoporosis and osteopathy markers in patients with mastocytosis. *Turkish J Haematol Off J Turkish Soc Haematol.* 2015; 32: 43-50.
  65. van der Veer E, Arends S, van der Hoek S, Versluijs JB, de Monchy JGR, Oude Elberink JNG, van Doormaal JJ. Predictors of new fragility fractures after diagnosis of indolent systemic mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 134: 1413-21.
  66. Seitz S, Barvencik F, Koehne T, Priemel M, Pogoda P, Semler J, et al. Increased osteoblast and osteoclast indices in individuals with systemic mastocytosis. *Osteoporos Int.* 2013; 24: 2325-34.
  67. Guillaume N, Desoutter J, Chandesris O, Merlusca L, Henry I, Georgin-Lavialle S, Barete S, Hirsch I, Bouredji D, Royer B, Gruson B, Lok C, Sevestre H, Mentaverri R, Brazier M, Meynier J, Hermine O, Marolleau J-P, Kamel S, Damaj G. Bone complications of mastocytosis: a link between clinical and biological characteristics. *Am J Med.* 2013; 126: 75.e1-7.
  68. van der Veer E, van der Goot W, de Monchy JGR, Kluin-Nelemans HC, van Doormaal JJ. High prevalence of fractures and osteoporosis in patients with indolent systemic mastocytosis. *Allergy.* 2012; 67: 431-8.
  69. Laroche M, Livideanu C, Paul C, Cantagrel A. Interferon alpha and pamidronate in osteoporosis with fracture secondary to mastocytosis. *Am J Med.* 2011; 124: 776-8.

70. Rossini M, Zanotti R, Bonadonna P, Artuso A, Caruso B, Schena D, et al. Bone mineral density, bone turnover markers and fractures in patients with indolent systemic mastocytosis. *Bone*. 2011; 49: 880-5.
71. Barete S, Assous N, de Gennes C, Grandpeix C, Feger F, Palmerini F, et al. Systemic mastocytosis and bone involvement in a cohort of 75 patients. *Ann Rheum Dis*. 2010; 69: 1838-41.
72. Rossini M, Zanotti R, Viapiana O, Tripi G, Idolazzi L, Biondan M, et al. Zoledronic acid in osteoporosis secondary to mastocytosis. *Am J Med*. 2014; 127: 1127.e1-4.
73. Rabenhorst A, Christopheit B, Leja S, Gerbaulet A, Kleiner S, Förster A, et al. Serum levels of bone cytokines are increased in indolent systemic mastocytosis associated with osteopenia or osteoporosis. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 132: 1234.7.e7.
74. Kushnir-Sukhov NM, Brittain E, Reynolds JC, Akin C, Metcalfe DD. Elevated tryptase levels are associated with greater bone density in a cohort of patients with mastocytosis. *Int Arch Allergy Immunol*. 2006; 139: 265-70.
75. Johansson C, Roupe G, Lindstedt G, Mellström D. Bone density, bone markers and bone radiological features in mastocytosis. *Age Ageing*. 1996; 25: 1-7.
76. Kanis JA. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: synopsis of a WHO report. WHO Study Group. *Osteoporos Int*. 1994; 4: 368-81.
77. Lewiecki EM, Gordon CM, Baim S, Leonard MB, Bishop NJ, Bianchi M-L, et al. International Society for Clinical Densitometry 2007 Adult and Pediatric Official Positions. *Bone*. 2008; 43: 1115-21.
78. Hermine O, Lortholary O, Leventhal PS, Cateau A, Soppelsa F, Baude C, et al. Case-control cohort study of patients' perceptions of disability in mastocytosis. *PLoS One*. 2008; 3: e2266.
79. Rossini M, Viapiana O, Adami S, Idolazzi L, Zanotti R, Gatti D. Rapid skeletal turnover in radiographic mimic of osteopetrosis might be secondary to systemic mastocytosis. *J Bone Miner Res*. 2015; 30: 945.
80. Dellling G, Ritzel H, Werner M. Histological characteristics and prevalence of secondary osteoporosis in systemic mastocytosis. A retrospective analysis of 158 cases. *Pathologe*. 2001; 22: 132-40.
81. Fallon MD, Whyte MP, Teitelbaum SL. Systemic mastocytosis associated with generalized osteopenia. Histopathological characterization of the skeletal lesion using undecalcified bone from two patients. *Hum Pathol*. 1981; 12: 813-20.
82. Chines A, Pacifici R, Avioli LV, Teitelbaum SL, Korenblat PE. Systemic mastocytosis presenting as osteoporosis: a clinical and histomorphometric study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1991; 72: 140-4.
83. de Gennes C, Kuntz D, de Vernejoul MC. Bone mastocytosis. A report of nine cases with a bone histomorphometric study. *Clin Orthop Relat Res*. 1992; 281-91.
84. Theoharides TC, Boucher W, Spear K. Serum interleukin-6 reflects disease severity and osteoporosis in mastocytosis patients. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002; 128: 344-50.
85. Brockow K, Akin C, Huber M, Metcalfe DD. IL-6 levels predict disease variant and extent of organ involvement in patients with mastocytosis. *Clin Immunol*. 2005; 115: 216-23.
86. Chiappetta N, Gruber B. The role of mast cells in osteoporosis. *Semin Arthritis Rheum*. 2006; 36: 32-6.
87. Galli SJ, Tsai M. Mast cells: versatile regulators of inflammation, tissue remodeling, host defense and homeostasis. *J Dermatol Sci*. 2008; 49: 7-19.
88. Dobigny C, Saffar JL. H1 and H2 histamine receptors modulate osteoclastic resorption by different pathways: evidence obtained by using receptor antagonists in a rat synchronized resorption model. *J Cell Physiol*. 1997; 173: 10-8.
89. Biosse-Duplan M, Baroukh B, Dy M, de Vernejoul M-C, Saffar J-L. Histamine promotes osteoclastogenesis through the differential expression of histamine receptors on osteoclasts and osteoblasts. *Am J Pathol*. 2009; 174: 1426-34.
90. Fitzpatrick LA, Buzas E, Gagne TJ, Nagy A, Horvath C, Ferencz V, et al. Targeted deletion of histidine decarboxylase gene in mice increases bone formation and protects against ovariectomy-induced bone loss. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100: 6027-32.
91. Escribano L, Akin C, Castells M, Schwartz LB. Current options in the treatment of mast cell mediator-related symptoms in mastocytosis. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 2006; 5: 61-77.
92. Worobec AS, Metcalfe DD. Mastocytosis: current treatment concepts. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002; 127: 153-5.
93. Lytinas M, Kempuraj D, Huang M, Kandere K, Boucher W, Letourneau R, et al. Azelastine's inhibition of histamine and tryptase release from human umbilical cord blood-derived cultured mast cells as well as rat skin mast cell-induced vascular permeability: comparison with olopatadine. *Allergy Asthma Proc*. 23: 45-51.
94. Hadzijušufovic E, Peter B, Gleixner KV, Schuch K, Pickl WF, Thaiwong T, et al. H1-receptor antagonists terfenadine and loratadine inhibit spontaneous growth of neoplastic mast cells. *Exp Hematol*. 2010; 38: 896-907.

95. Turner PJ, Kemp AS, Rogers M, Mehr S. Refractory symptoms successfully treated with leukotriene inhibition in a child with systemic mastocytosis. *Pediatr Dermatol.* 29; 222-3.
96. Mullol J, Bousquet J, Bachert C, Canonica GW, Giménez-Arnau A, Kowalski ML, et al. Update on rupatadine in the management of allergic disorders. *Allergy.* 2015; 70 (Suppl. 1): 1-24.
97. Ali AS, Lax A-S, Liljeström M, Paakkari I, Ashammakhi N, Kovanen PT, Kontinen YT. Mast cells in atherosclerosis as a source of the cytokine RANKL. *Clin Chem Lab Med.* 2006; 44: 672-4.
98. Rossini M, Gatti D, Adami S. Involvement of WNT/ $\beta$ -catenin signaling in the treatment of osteoporosis. *Calcif Tissue Int.* 2013; 93: 121-32.
99. Broesby-Olsen S, Kristensen T, Vestergaard H, Brixen K, Møller MB, Bindslev-Jensen C. KIT D816V mutation burden does not correlate to clinical manifestations of indolent systemic mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol.* 2013; 132: 723-8.
100. Benucci M, Bettazzi C, Bracci S, Fabiani P, Monsacchi L, Cappelletti C, et al. Systemic mastocytosis with skeletal involvement: a case report and review of the literature. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2009; 6: 66-70.
101. Graves L, Stechschulte DJ, Morris DC, Lukert BP. Inhibition of mediator release in systemic mastocytosis is associated with reversal of bone changes. *J Bone Miner Res.* 1990; 5: 1113-9.
102. Weide R, Ehlenz K, Lorenz W, Walthers E, Klausmann M, Pflüger KH. Successful treatment of osteoporosis in systemic mastocytosis with interferon alpha-2b. *Ann Hematol.* 1996; 72: 41-3.
103. Pardanani A. Systemic mastocytosis in adults: 2015 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol.* 2015; 90: 250-62.
104. Lim AYN, Ostor AJK, Love S, Crisp AJ. Systemic mastocytosis: a rare cause of osteoporosis and its response to bisphosphonate treatment. *Ann Rheum Dis.* 2005; 64: 965-6.
105. Laroche M, Bret J, Brouchet A, Mazières B. Clinical and densitometric efficacy of the association of interferon alpha and pamidronate in the treatment of osteoporosis in patients with systemic mastocytosis. *Clin Rheumatol.* 2007; 26: 242-3.
106. Marshall A, Kavanagh RT, Crisp AJ. The effect of pamidronate on lumbar spine bone density and pain in osteoporosis secondary to systemic mastocytosis. *Br J Rheumatol.* 1997; 36: 393-6.
107. Cundy T, Beneton MN, Darby AJ, Marshall WJ, Kanis JA. Osteopenia in systemic mastocytosis: natural history and responses to treatment with inhibitors of bone resorption. *Bone.* 1987; 8: 149-55.
108. Brunsen C, Hamdy NAT, Papapoulos SE. Osteoporosis and bone marrow mastocytosis: dissociation of skeletal responses and mast cell activity during long-term bisphosphonate therapy. *J Bone Miner Res.* 2002; 17: 567-9.
109. Grey A, Bolland MJ, Horne A, Wattie D, House M, Gamble G, Reid IR. Five years of anti-resorptive activity after a single dose of zoledronate--results from a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Bone.* 2012; 50: 1389-93.
110. Reid IR, Black DM, Eastell R, Bucci-Rechtweg C, Su G, Hue TF, Mesenbrink P et al. HORIZON Pivotal Fracture Trial and HORIZON Recurrent Fracture Trial Steering Committees. Reduction in the risk of clinical fractures after a single dose of zoledronic Acid 5 milligrams. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98: 557-63.
111. Lehmann T, Beywler C, Lämmle B, Hunziker T, Vock P, Olah AJ, et al. Severe osteoporosis due to systemic mast cell disease: Successful treatment with interferon alpha-2B. *Rheumatology.* 1996; 35: 898-900.
112. Butterfield JH. Interferon treatment for hypereosinophilic syndromes and systemic mastocytosis. *Acta Haematol.* 2005; 114: 26-40.
113. Rossini M, Adami G, Adami S, Viapiana O, Gatti D. Safety issues and adverse reactions with osteoporosis management. *Expert Opin Drug Saf.* 2016; 15: 321-32.
114. Turner RT, Iwaniec UT, Marley K, Sibonga JD. The role of mast cells in parathyroid bone disease. *J Bone Miner Res.* 2010; 25: 1637-49.
115. Rossini M, Adami S, Zanotti R, Viapiana O, Idolazzi L, Biondan M, Gatti D. Serum levels of bone cytokines in indolent systemic mastocytosis associated with osteopenia or osteoporosis. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 133: 933-5.
116. Pardanani A. How I treat patients with indolent and smoldering mastocytosis (rare conditions but difficult to manage). *Blood.* 2013; 121: 3085-94.
117. Tefferi A, Li C-Y, Butterfield JH, Hoagland HC. Treatment of Systemic Mast-Cell Disease with Cladribine. *N Engl J Med.* 2001; 344: 307-9.
118. Verstovsek S. Advanced systemic mastocytosis: the impact of KIT mutations in diagnosis, treatment, and progression. *Eur J Haematol.* 2013; 90: 89-98.

# Farmaci anticoagulanti

## Anticoagulants

D. Merlotti<sup>1,2</sup>, L. Gennari<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Divisione di Genetica e Biologia Cellulare, Istituto San Raffaele, Milano;

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Medico Chirurgiche e Neuroscienze, Università di Siena

### SUMMARY

Secondary osteoporosis related to the use of drugs is quite common and is a poor prognostic factor in patients with chronic diseases. Among the various compounds capable of influencing bone homeostasis, both heparin and oral anticoagulants have been associated with bone loss and increased risk of fracture. Oral anticoagulants are widely used in the treatment of cardiovascular diseases such as deep vein thrombosis and atrial fibrillation. They act as antagonists of the vitamin K, which is able to reduce bone resorption by influencing the formation of osteoclast-like cells and the synthesis of prostaglandins. Moreover the vitamin K is needed for osteocalcin carboxylation and therefore has an important role also in the process of bone mineralization. The therapy with oral anticoagulants, which inhibit the vitamin K, such as warfarin, is associated, therefore, with an increased risk of osteoporosis especially in long-term therapies, even if available data are still conflicting. On the contrary, the new oral anticoagulants act by inhibiting the coagulation factor Xa without interfering on the gamma-carboxylation of osteocalcin. However, rivaroxaban seems to be able to significantly reduce osteoblasts function and therefore also such compounds may interfere with skeletal homeostasis, although to date, few data from in vitro and in vivo studies are available and little is known about the long term effects.

Reumatismo, 2016; 68 (S3): 22-27

L'osteoporosi costituisce un crescente problema sociale sia per le donne in post menopausa che per gli uomini anziani in tutto il mondo (1). Le fratture sono una grave conseguenza dell'osteoporosi e influenzano la morbilità, riducono la qualità di vita e comportano un'importante disabilità motoria che interferisce con le attività quotidiane. Sono stati identificati vari fattori di rischio per l'osteoporosi e le fratture, quali il sesso femminile, la riduzione della densità minerale ossea (BMD), la familiarità per frattura, lo stile di vita e l'utilizzo di alcuni farmaci. Tra questi ultimi vanno tenuti in seria considerazione gli anticoagulanti orali, dal momento che è in aumento il numero di soggetti anziani con varie comorbidità che necessitano di tali farmaci come terapia a lungo termine (2, 3).

Fra quelli più utilizzati troviamo i cumarini, come il warfarin, che antagonizzano l'azione della vitamina K attraverso l'inibizione dell'enzima vitamina K epossido riduttasi. La vitamina k è il nome generico di una famiglia di composti con attività di

gamma carbossilazione scoperta nel 1929 dallo scienziato danese Henrik Dam. Essa comprende tre composti: Fillochinone o vitamina K1 che si ritrova specialmente nelle piante a foglia verde, Menaquinone o vitamina k2 che è un prodotto di derivazione batterica e quindi si ritrova in prodotti fermentati od in alimenti di origine animale. Esso include una famiglia di molecole con una catena laterale del gruppo isoprenoide di lunghezza variabile tra 1 a 14 ripetizioni. Quando manca la catena laterale si parla di Menadione o vitamina k3 che è un composto sintetico che si ritrova soltanto nei supplementi. Per anni si è pensato che la vitamina k fosse coinvolta solo nel processo della cascata coagulativa, ma più recentemente sono state individuate numerose altre proteine ad azione k dipendente. Queste comprendono 4 fattori pro-coagulativi (fattore VII, IX, X e protrombina) e 3 proteine anticoagulanti (proteina C, S e Z) che sono sintetizzate principalmente a livello epatico. La vitamina K agisce come cofattore nella gamma carbossilazione post

Indirizzo per la corrispondenza:  
D. Merlotti  
E-mail: dmerlotti@yahoo.it

traslazionale dell'acido glutammico ed in seguito alla terapia con anticoagulanti, si verifica la produzione di proteine non carbossilate e non funzionanti, comprese l'osteocalcina e la proteina Gla della matrice (4, 5). Il ruolo preciso di queste due proteine non è ancora ben chiaro ma si ritiene che l'osteocalcina, la cui sintesi da parte degli osteoblasti è indotta dalla 1,25(OH) vitamina D, sia coinvolta nella regolazione dell'attività degli osteoblasti e nella crescita dei cristalli di idrossiapatite di calcio (5, 6), mentre la proteina Gla della matrice agisca a livello della formazione e mineralizzazione ossea e come inibitore della calcificazione a livello arterioso (7). L'osteocalcina viene quindi considerata come un indicatore della neoformazione ossea, mentre l'assenza della proteina Gla della matrice è associata a grave osteopenia e fratture in modelli sperimentali (8). A metà degli anni '70, è stato pubblicato il primo report che segnalava la presenza di gravi malformazioni ossee in neonati le cui madri erano state trattate con antagonisti della vitamina K nel primo trimestre di gravidanza (9). Qualche anno più tardi, veniva segnalato che pazienti con frattura vertebrale o di femore presentavano ridotti livelli circolanti di fillochinone rispetto a controlli sani (10). Tale osservazione fu poi confermata da Hodges et al. (11), che descrisse che pazienti con fratture osteoporotiche sia a livello vertebrale che dell'anca avevano livelli fortemente ridotti di fillochinone, menaquinone-7 e menaquinone-8; rimaneva tuttavia da chiarire se i ridotti livelli di vitamina K fossero la causa o la conseguenza dell'evento fratturativo. Numerosi studi epidemiologici hanno messo in evidenza la correlazione tra intake di vitamina K e salute ossea. Tra questi il Framingham Heart Study ed il Nurse Health Study; entrambi hanno dimostrato che l'apporto alimentare di vitamina K, valutato tramite apposito questionario alimentare, correla con il rischio di frattura a livello femorale e con la densità minerale ossea (BMD) (12, 13). Nel Nurse Health Study sono state esaminate 72327 donne di età compresa tra 38 e 63 anni ed è stato osservato che un intake di vitamina K <109 mg/

die si associava ad un aumento del rischio di frattura femorale pari al 30% in più rispetto alle pazienti con un introito alimentare superiore (13). Simili risultati sono emersi anche dal Framingham Heart Study dove, sebbene non ci fosse associazione tra intake di vitamina K e BMD in entrambi i sessi tra i soggetti anziani, tuttavia veniva osservato una ridotta massa ossea a livello femorale in un sottogruppo di donne più giovani con ridotto apporto di vitamina K (70 mg/die) (12). Gli effetti negativi del deficit di vitamina K e degli anticoagulanti orali sull'osso giovane ed in rapida crescita sono stati ampiamente descritti in modelli sia animali che umani, mentre i loro effetti sullo scheletro adulto non sono ancora del tutto chiari (10, 14). Una metanalisi pubblicata nel 2006 suggerisce che la supplementazione con vitamina K1 o menaquinone-4 sia in grado di ridurre la perdita di massa ossea e l'incidenza di fratture (15). Tuttavia tale metanalisi comprendeva solo 19 studi, la maggior parte giapponesi, di cui solo due con vitamina K1 ed i restanti con menaquinone-4 alla dose di 45mg/die. Inoltre, la maggior parte degli studi comprendeva pazienti con osteoporosi secondaria o con concomitante ridotto intake di vitamina D e calcio. Fra gli studi che avevano valutato il rischio fratturativo, solo tre erano con pazienti osteoporotici, mentre i rimanenti comprendevano soggetti con Alzheimer, Parkinson, stroke e nefropatie. Inoltre, è stato ampiamente dimostrato che l'utilizzo di anticoagulanti orali durante il primo trimestre di gravidanza provoca effetti deleteri sullo sviluppo osseo fetale (9), non è ancora del tutto chiaro se il trattamento con anticoagulanti possa incrementare il rischio di osteoporosi nell'adulto. Vari studi hanno indicato un aumento del rischio di osteoporosi in seguito all'utilizzo di tali composti (16), mentre altri non hanno segnalato alcun effetto collaterale a livello osseo (17). Una recente metanalisi ha esaminato 21 studi osservazionali confrontando 79663 soggetti in terapia con anticoagulanti orali, in particolare antagonisti della vitamina K, rispetto a 597348 controlli sani o con comorbidità e valutando la possibile correlazione tra tale terapia

e l'incidenza di fratture. Contrariamente a quanto ipotizzato dagli autori, l'utilizzo di antagonisti della vitamina K non è risultato significativamente associato ad un aumentato rischio di frattura o riduzione della densità ossea quando venivano considerate le varie comorbidità (18).

Inoltre, l'utilizzo di warfarin a basse dosi è in grado di influenzare lo stato vitaminico K sia in soggetti giovani che in soggetti anziani. Un milligrammo di warfarin associato a 40 mg di vitamina K1 al giorno è in grado di aumentare i livelli sierici di osteocalcina non carbossilata e di ridurre i livelli urinari di proteina Gla (19). Un'ulteriore spiegazione della mancanza di una chiara connessione tra anticoagulanti orali e rischio di frattura può essere legata al fatto che spesso l'evento fratturativo si associa ad un deficit sia di vitamina K che di vitamina D (20). In donne con ridotta massa ossea, l'incremento dei livelli di osteocalcina non carbossilata e BMD era superiore quando le vitamine erano somministrate in combinazione rispetto al solo supplemento con vitamina K (21). Numerosi studi in vitro ed in vivo hanno mostrato che la 1,25-diidrossi-vitamina D induce la sintesi di osteocalcina promuovendo la trascrizione del suo gene (22), mentre la vitamina K è responsabile dell'attivazione post-trascrizionale. Alcuni studi in vitro hanno anche dimostrato che in presenza di vitamina D, i menaquinoni aumentano la deposizione di calcio e la mineralizzazione vitamina D mediata e sono in grado di indurre l'espressione e la produzione del RNA messaggero (mRNA) dell'osteocalcina (23).

L'osteoporosi è anche uno dei seri effetti collaterali secondario all'utilizzo a lungo termine dell'eparina non frazionata (24). L'eparina è una molecola con attività anticoagulante naturale, che si lega all'antitrombina III (AT-III), un inibitore enzimatico che a seguito del legame con l'eparina stessa cambia conformazione esponendo il suo sito attivo. L'AT-III attivata a sua volta inattiva la trombina (Fattore IIa), il Fattore X, e altre proteasi coinvolte nella coagulazione del sangue. L'osteoporosi secondaria legata alla terapia con eparina (HIO) è oggi ben nota; nel 1965 Griffith et al. descrisse-

ro per la prima volta tale effetto collaterale in 115 pazienti trattati per lungo termine con eparina non frazionata (UFH), 10 dei quali erano andati incontro anche a fratture spontanee (25). Al contrario, l'utilizzo di alte dosi di UFH e per brevi periodi (come avviene nella terapia tromboembolica) non sembra essere associato allo sviluppo di osteoporosi (25). La patogenesi della HIO non è ad oggi ben chiara ma vari possibili meccanismi sono stati ipotizzati (24). L'eparina può esercitare un effetto diretto sulle cellule ossee, verosimilmente incrementando l'attività osteoclastica e/o riducendo quella osteoblastica; può inoltre inibire il processo di calcificazione attraverso la sua elevata affinità per gli ioni del calcio. Infine, studi in vitro hanno mostrato che l'eparina può agire anche come agente chelante per ridurre le concentrazioni di calcio ionizzato, con conseguente aumento dei livelli di PTH che a sua volta inducono un aumento dell'attività osteoclastica e del processo di demineralizzazione. La HIO è particolarmente rilevante durante la gravidanza, dal momento che è una delle poche condizioni dove vi è indicazione all'utilizzo di UFH a lungo termine. Tuttavia anche le eparine a basso peso molecolare (LMWH) hanno mostrato un buon profilo di sicurezza durante la gravidanza con un'efficacia simile alla UFH nella trombo-profilassi della trombosi venosa profonda gravidica e post partum (26). Alcuni studi su modelli animali hanno dimostrato che le LMWH possono causare una riduzione dose dipendente del volume dell'osso trabecolare a livello del femore distale, sebbene tale effetto sia minore di quello indotto dalle UFH (27). È stato inoltre dimostrato che le UFH e le LMWH riducono la formazione ossea, ma solo le UFH aumentano anche il riassorbimento (27). Ad oggi, tuttavia, nessuno studio controllato randomizzato è stato condotto per definire con precisione gli effetti della somministrazione delle LMWH sulla massa ossea rispetto alle altre eparine anche se attualmente le LMWH hanno rimpiazzato le UFH nella maggior parte delle terapie a lungo termine. Le eparine e le LMWH sono comunemente utilizzate anche per prevenire la trombosi venosa

profonda (VTE) in seguito ad interventi chirurgici ortopedici. L'effetto collaterale dell'enoxaparina in questi casi a livello osseo è quello di ritardare il processo di calcificazione post operatoria (27, 28). In particolare l'utilizzo di enoxaparina è stato associato ad osteoporosi, significativa riduzione della resistenza ossea, della qualità dell'osso e ad un incremento del rischio di frattura (29). L'antagonismo competitivo fra i vari fattori di crescita e le eparine a livello delle proteine di membrana degli osteoblasti induce un'inibizione della crescita di tali cellule e ciò costituisce un elemento fondamentale alla base del ritardo di consolidamento della frattura e dell'osteoporosi secondaria (30).

In questi ultimi anni sta aumentando in modo significativo l'utilizzo di un nuovo inibitore del fattore Xa per via orale chiamato rivaroxaban; tuttavia pochi sono i dati circa gli effetti di tale composto sul processo di consolidamento della frattura (30, 31). Il rivaroxaban viene utilizzato nella terapia anti trombotica post intervento di artroprotesi a livello di anca e ginocchio. Esso possiede una selettività 10000 volte maggiore nei confronti del fattore Xa rispetto alle altre serina proteasi e, a differenza delle LMWH, non necessita dell'antitrombina come cofattore ma inibisce direttamente il fattore Xa (32). L'efficacia clinica del rivaroxaban nel ridurre il rischio post operatorio di trombosi venosa profonda è stata ampiamente dimostrata ed è pari a quella delle LMWH (33). Nel post operatorio, il processo di calcificazione e consolidamento inizia con il reclutamento e la migrazione cellulare verso il sito del trauma, seguito dalla proliferazione e dalla differenziazione in senso osteogenico delle cellule mesenchimali stromali (MSCs). Infine, gli osteoblasti promuovono la calcificazione della matrice extracellulare (34). Recentemente uno studio ha dimostrato che enoxaparina e rivaroxaban hanno effetti diversi sulle prime fasi del processo di consolidamento della frattura nell'uomo (35). Nella prima settimana di terapia l'enoxaparina aumenta il potenziale delle MSCs di migrare verso il sito di frattura e proliferare; tuttavia lo stesso composto

inibisce il differenziamento delle MSCs in osteoblasti. Al contrario il rivaroxaban ha un minimo o nullo effetto sulla migrazione delle MSCs, sulla loro proliferazione o sull'espressione del mRNA dei markers osteogenici. Infine, recentemente è stato condotto uno studio su modelli animali per determinare gli effetti del warfarin (1 mg/kg) e dell'edoxaban (1 mg/kg come dose antitrombotica e 54 mg/kg per ottenere un prolungamento del PT di 2,25 volte), un altro nuovo inibitore diretto del fattore Xa, sulle concentrazioni totali sieriche di osteocalcina gamma-carbossilata e decarbossilata. Gli autori hanno dimostrato che, in vivo, l'edoxaban anche a dosaggi più alti di quelli necessari per l'azione antitrombotica, non ha effetti sulla produzione di osteocalcinagamma-carbossilata e quindi dovrebbe avere meno effetti collaterali sulla salute ossea.

## ■ CONCLUSIONI

Nonostante numerosi studi abbiano riconosciuto un ruolo negativo degli anticoagulanti orali nel processo di rimodellamento osseo, ad oggi il ruolo di tali composti nell'eziopatogenesi dell'osteoporosi e delle fratture è ancora controverso. Dati più consistenti sono disponibili per ciò che riguarda gli effetti delle terapie anticoagulanti per lunghi periodi (più di un anno) che spesso riguardano soggetti anziani con numerose comorbidità nei quali l'effetto iatrogeno potrebbe sommarsi ad una concomitante bassa BMD. Tenendo presente il sempre più crescente utilizzo dei farmaci anticoagulanti nella popolazione generale, unitamente ad una maggiore aspettativa di vita, è ipotizzabile, in futuro, anche un aumento degli effetti collaterali legati a tali composti. Tali effetti, compresi quelli inerenti il metabolismo osseo, sono più chiari per quanto riguarda gli inibitori della vitamina K; tuttavia dovremo tenere sotto stretta vigilanza anche coloro che assumono i nuovi anticoagulanti ad azione diretta in quanto sempre più utilizzati anche a lungo termine. Fondamentale sarà l'adozione di strategie per ridurre il rischio generale di

osteoporosi e delle sue complicanze come l'ottimizzazione dello stato vitaminico sia K che D attraverso l'aumento dell'apporto alimentare o tramite apposita supplementazione e la diagnosi precoce associata al trattamento dei soggetti a rischio con ridotta BMD. Resta comunque necessario comprendere meglio il meccanismo dei

farmaci anticoagulanti al fine di migliorare la gestione degli effetti collaterali e delle complicanze. In particolare studi prospettici ad hoc dovranno essere condotti per confermare i dati finora emersi dagli studi in vitro ed in vivo relativamente ad i nuovi anticoagulanti orali ad azione diretta e sul loro effetto sulla salute ossea.

#### RIASSUNTO

L'osteoporosi secondaria all'utilizzo di farmaci è comune e costituisce un fattore prognostico negativo in pazienti con patologie croniche. Sia l'eparina che gli anticoagulanti orali sono stati associati a osteoporosi e rischio di frattura. Gli anticoagulanti orali sono ampiamente utilizzati nel trattamento delle patologie cardiovascolari; essi agiscono come antagonisti della vitamina K, la quale è in grado di ridurre il riassorbimento osseo ed è necessaria per la carbosilazione dell'osteocalcina. La terapia con warfarin è associata ad un aumentato rischio di osteoporosi specialmente a lungo termine anche se i dati rimangono contrastanti. Al contrario, i nuovi anticoagulanti orali agiscono inibendo direttamente il fattore Xa; fra questi il rivaroxaban sembra ridurre la funzione degli osteoblasti e quindi anche tali composti potrebbero interferire sull'omeostasi scheletrica. Tuttavia, pochi studi sono disponibili e poco si conosce sugli effetti a lungo termine.

#### ■ BIBLIOGRAFIA

- Melton LJ 3rd. How many women have osteoporosis now? *J Bone Miner Res.* 1995; 10: 175-7.
- Hirsh J, Dalen JE, Deykin D, Poller L, Bussey H. Oral anticoagulants. Mechanism of action, clinical effectiveness, and optimal therapeutic range. *Chest.* 1995; 108: 231S-246S.
- Eastell R. Treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med.* 1998; 338: 736-46.
- Stenflo J, Fernlund P, Egan W, Roepstorff P. Vitamin K dependent modifications of glutamic acid residues in prothrombin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1974; 71: 2730-3.
- Hauschka PV, Lian JB, Cole DE, Gundberg CM. Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K-dependent proteins in bone. *Physiol Rev.* 1989; 69: 990-1047.
- Iwamoto J, Takeda T, Ichimura S, Sato Y, Yeh JK. Differential effect of vitamin K and vitamin D supplementation on bone mass in young rats fed normal or low calcium diet. *Yonsei Med J.* 2004; 45: 314-24.
- Proudfoot D, Shanahan CM. Molecular mechanisms mediating vascular calcification: Role of matrix Gla protein. *Nephrology.* 2006; 11: 455-61.
- Luo G, Ducy P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR, et al. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature.* 1997; 386: 78-81.
- Pettifor JM, Benson R. Congenital malformations associated with the administration of oral anticoagulants during pregnancy. *J Pediatr.* 1975; 86: 459-62.
- Hart J, Catterall A, Dodds R, Klenerman L, Shearer M, Bitensky L. Circulating vitamin K1 levels in fractured neck of femur. *Lancet.* 1984; 2:2 83.
- Hodges SJ, Akesson K, Vergnaud P, Obrant K, Delmas PD. Circulating levels of vitamins K1 and K2 decreased in elderly women with hip fracture. *J Bone Miner Res.* 1993; 8: 1241-5.
- Booth SL, Broe KE, Gagnon DR, Tucker KL, Hannan MT, McLean RR, et al. Vitamin K intake and bone mineral density in women and men. *Am J Clin Nutr.* 2003; 77: 512-6.
- Feskanich D, Weber P, Willett WC, Rockett H, Booth SL, Colditz GA. Vitamin K intake and hip fractures in women: A prospective study. *Am J Clin Nutr.* 1999; 69:74-9
- Pauli RM, Lian JB, Mosher DF, Suttie JW. Association of congenital deficiency of multiple vitamin K-dependent coagulation factors and the phenotype of the warfarin embryopathy: clues to the mechanism of teratogenicity of coumarin derivatives. *Am J Hum Genet.* 1987; 41: 566-83.
- Cockayne S, Adamson J, Lanham-New S, Shearer M, Gilbody S, Torgerson D. Vitamin K and the prevention of fractures. *Arch Intern Med.* 2006; 166: 1256-61.
- Caraballo PJ, Gabriel SE, Castro MR, Atkinson EJ, Melton LJ III. Changes in bone density after exposure to oral anticoagulants: A meta-analysis. *Osteoporos Int.* 1999; 9: 441-8.
- Jamal SA, Browner WS, Bauer DC, Cummings SR. Warfarin use and risk for osteoporosis in elderly women. *Ann Intern Med.* 1998; 128: 829-32.

18. Veronese N, Bano G, Bertozzo G, Granziera S, Solmi M, Manzato E, et al. Vitamin K antagonists' use and fracture risk: results from a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost.* 2015; 13: 1665-75.
19. Bach AU, Anderson SA, Foley AL, Williams EC, Suttie JW. Assessment of vitamin K status in human subjects administered "minidose" warfarin. *Am J Clin Nutr.* 1996; 64: 894-902.
20. Booth SL, O'Brien-Morse ME, Dallal GE, Davidson KW, Gundberg CM. Response of vitamin K status to different intakes and sources of phyloquinone-rich foods: Comparison of younger and older adults. *Am J Clin Nutr.* 1999;70: 368-77.
21. Ushiroyama T, Ikeda A, Ueki M. Effect of continuous combined therapy with vitamin K(2) and vitamin D(3) on bone mineral density and coagulofibrinolysis function in postmenopausal women. *Maturitas.* 2002; 41: 211-21.
22. Lian J, Stewart C, Puchacz E, Mackowiak S, Shalhoub V, Collart D, et al. Structure of the rat osteocalcin gene and regulation of vitamin D dependent expression. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989; 86: 1143-7.
23. Koshihara Y, Hoshi K, Ishibashi H, Shiraki M. Vitamin K2 promotes 1alpha, 25(OH)2 vitamin D3-induced mineralization in human periosteal osteoblasts. *Calcif Tissue Int.* 1996; 59: 466-73.
24. Nelson-Piercy C. Hazards of heparin: allergy, heparin-induced thrombocytopenia and osteoporosis. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol.* 1997; 11: 489-509.
25. Griffith GC, Nichols G Jr, Asher JD, Flanagan B. Heparin osteoporosis. *JAMA.* 1965; 193: 91-4.
26. Pettila V, Kaaja R, Leinonen P, Ekblad U, Kataja M, Ikkala E. Thromboprophylaxis with low molecular weight heparin (dalteparin) in pregnancy. *Thromb Res.* 1999; 96: 275-82.
27. Muir JM, Hirsh J, Weitz JI, Andrew M, Young E, Shaughnessy SG. A histomorphometric comparison of the effects of heparin and low-molecular-weight heparin on cancellous bone in rats. *Blood.* 1997; 89: 3236-42.
28. Kock HJ, Handschin AE. Osteoblast growth inhibition by unfractionated heparin and by low molecular weight heparins: an in-vitro investigation. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2002; 8: 251-5.
29. Rajgopal R, Bear M, Butcher MK, Shaughnessy SG. The effects of heparin and low molecular weight heparins on bone. *Thromb Res.* 2008; 122: 293-8.
30. Gigi R, Salai M, Dolkart O, Chechik O, Katzburg S, Stern N et al. The effects of direct factor Xa inhibitor (Rivaroxaban) on the human osteoblastic cell line SaOS2. *Connect Tissue Res.* 2012; 53: 446-450.
31. Pilge H, Fröbel J, Mrotzek SJ, Fischer JC, Proding PM, Zilkens C et al. Effects of thromboprophylaxis on mesenchymal stromal cells during osteogenic differentiation: an in-vitro study comparing enoxaparin with rivaroxaban. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016; 17: 108.
32. Eriksson BI, Quinlan DJ, Weitz JI. Comparative pharmacodynamics and pharmacokinetics of oral direct thrombin and factor a inhibitors in development. *Clin Pharmacokinet.* 2009; 48: 1-22.
33. Eriksson BI, Borris LC, Friedman RJ, Haas S, Huisman MV, Kakkar AK et al. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after hip arthroplasty. *N Engl J Med.* 2008; 358: 2765-75.
34. Pilge H, Fröbel J, Proding PM, Mrotzek SJ, Fischer JC, Zilkens C, et al. Enoxaparin and rivaroxaban have different effects on human mesenchymal stromal cells in the early stages of bone healing. *Bone Joint Res.* 2016; 5: 95-100.
35. Morishima Y, Kamisato C, Honda Y, Furugohri T, Shibano T. The effects of warfarin and edoxaban, an oral direct factor Xa inhibitor, on gamma-carboxylated (Gla-osteocalcin) and undercarboxylated osteocalcin (uc-osteocalcin) in rats. *Thromb Res.* 2013; 131: 59-63.

# L-tiroxina

## L-thyroxine

F. Cetani MD, PhD

Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, U.O. Endocrinologia 2, Pisa

### SUMMARY

**Objective:** to summarize the results on the effect of L-thyroxine (L-T4) treatment on bone mineral density (BMD) and risk of fracture. Euthyroidism is essential for normal skeletal development and linear growth and for the attainment of peak bone mass in childhood.

**Results:** Hyperthyroidism in children leads to accelerated skeletal development and advanced bone age, whereas hypothyroidism is associated with impaired skeletal development and delayed bone age. Thyrotoxicosis results in an increase of bone turnover, shortening of bone remodeling, and can determine a loss of up to 10% of mineralized bone per remodeling cycle, whereas hypothyroidism is associated with a delayed bone remodeling cycle. It is still a matter of debate whether persistent subclinical hyperthyroidism can affect bone metabolism and increase the risk of fractures. In experimental animals, T4 excess caused osteopenia at cortical bone. Thyroid hormones affect bone remodeling in patients with thyroid disease by acting directly or indirectly on osteoclast activity. TSH may also affect skeletal remodeling by interacting with the specific receptors expressed on bone cells.

**Conclusions:** Cross-sectional and longitudinal studies suggest that TSH suppression induced by L-T4 therapy probably does not affect BMD in premenopausal women or men, although conflicting findings have been obtained in patients with differentiated thyroid cancer. In postmenopausal patients, L-T4 may accelerate bone turnover, depending on the degree of TSH suppression and dietary calcium intake. Conflicting results have been obtained about fracture risk in patients on L-T4 treatment.

Reumatismo, 2016; 68 (S3): 28-34

### ■ INTRODUZIONE

Una condizione di eutiroidismo è essenziale per il normale sviluppo scheletrico e crescita lineare e per l'ottenimento del picco di massa ossea nel giovane adulto. Il deficit di ormoni tiroidei nei bambini determina la riduzione dello sviluppo scheletrico ed un ritardo dell'età ossea, mentre l'ipertiroidismo si associa con un accelerato sviluppo scheletrico ed aumento dell'età ossea (1). Sia l'ipertiroidismo che l'ipotiroidismo sono stati associati con l'osteoporosi e con un aumento del rischio di frattura. L'ipertiroidismo determina un aumento del turnover osseo, un accorciamento del ciclo del *remodeling* osseo e disaccoppiamento del *remodeling* osseo, e può causare una perdita ossea fino al 10% di osso remineralizzato per ciclo di *remodeling* mentre l'ipotiroidismo può determinare un allungamento del ciclo di *remodeling* osseo (2). È ancora oggetto di discussione se l'iperti-

roidismo subclinico possa avere effetti negativi sul metabolismo osseo e se determini un aumento del rischio di frattura. In animali da esperimento, un eccesso di T4 causa osteopenia soprattutto a livello dell'osso corticale rispetto all'osso trabecolare (3). Risultati contrastanti sono stati ottenuti sul valore della concentrazione sierica di osteocalcina, marcatore di neoformazione ossea, in tre studi sull'ipertiroidismo subclinico endogeno e esogeno (4-6). Un aumento significativo dell'escrezione urinaria di idrossiprolina e piridolino, marcatori del collagene dell'osso, e del telopeptide, marcatore di riassorbimento osseo, è stato riportato in pazienti con ipertiroidismo subclinico (6-8).

Nei pazienti con malattia tiroidea gli ormoni tiroidei determinano effetto sul *remodeling* osseo agendo direttamente o indirettamente sull'attività degli osteoclasti. Il TSH ha anche effetti diretti sul remodeling scheletrico interagendo con specifici recet-

Indirizzo per la corrispondenza:  
F. Cetani  
E-mail: cetani@endoc.med.unipi.it

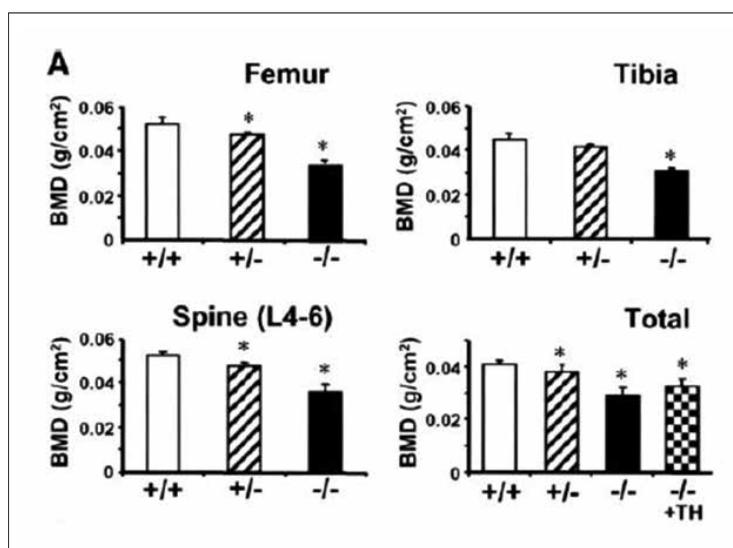
tori espressi sugli osteoclasti e osteoblasti (9). In animali da esperimento, la ridotta espressione del recettore del TSH porta allo sviluppo di osteoporosi, il che fa ipotizzare che l'effetto della soppressione del TSH sul turnover osseo possa essere mediato dal TSH piuttosto che dall'eccesso di ormoni tiroidei (Figura 1) (9). Sebbene, l'osteoporosi associata all'ipertiroidismo è vista tradizionalmente come una conseguenza secondaria dell'alterata funzione tiroidea, questi dati dimostrano che il TSH ha effetto diretto sia sulla formazione ossea che sul riassorbimento osseo. Tuttavia, nelle donne in perimenopausa una ridotta BMD sembra dipendere dai livelli sierici di ormoni tiroidei (10)

Gli effetti dell'ipertiroidismo subclinico esogeno sulla BMD e sul rischio di frattura nelle donne in pre- e postmenopausa sono stati ampiamente studiati. Tuttavia, deve essere tenuto presente che i criteri utilizzati per selezionare i pazienti ed i controlli nei primi studi non erano molto stringenti.

In questo articolo saranno riassunti i risultati dei principali studi e delle meta-analisi sull'effetto della terapia con L-tiroxina sulla densità minerale ossea e sul rischio di frattura in donne in pre e postmenopausa e negli uomini.

### ***Effetti dell'ipertiroidismo subclinico esogeno sulla BMD***

Gli studi sugli effetti della terapia soppressiva con L-tiroxina nelle donne in pre-menopausa hanno dato risultati contrastanti. I primi studi trasversali avevano dimostrato che la BMD, misurata con metodica DXA, era ridotta a livello del collo femorale e radiale ma non a livello lombare (11-14). Tuttavia, in quegli anni venivano utilizzate dosi molto elevate di T4 o T3 per sopprimere il TSH, determinando in molti casi una tireotossicosi iatrogena e non solo un ipertiroidismo subclinico. Inoltre, nella valutazione della BMD erano inclusi anche soggetti con una pregressa storia di ipertiroidismo. Studi trasversali successivi hanno dimostrato che la L-tiroxina non determinava significativi effetti negativi sull'osso sia nelle donne in pre-menopausa (Figura 2) che negli uomini (Figura 3) (15-



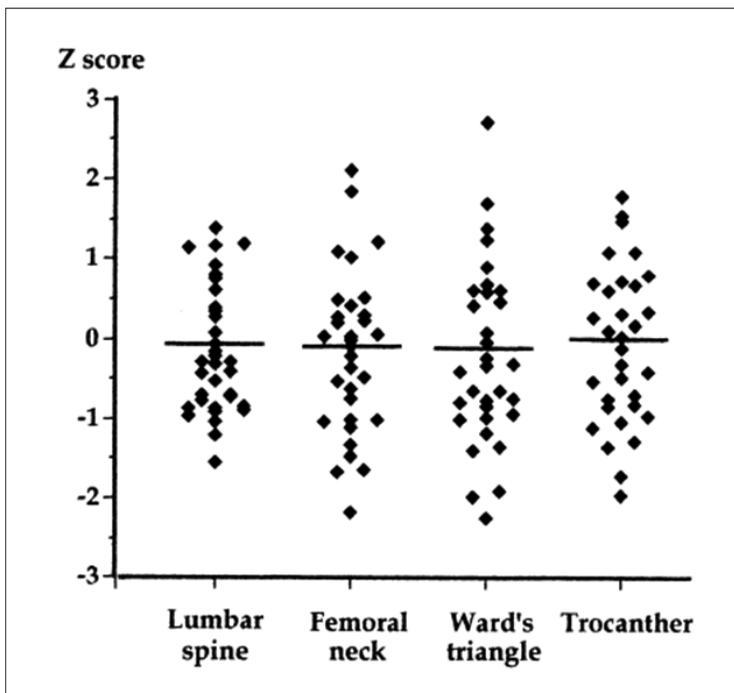
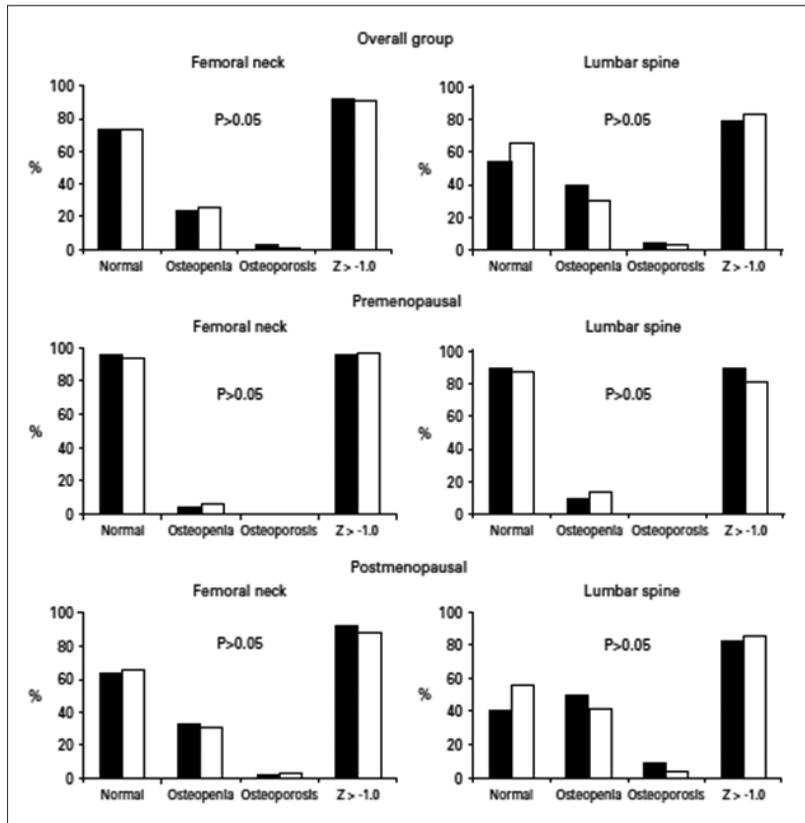
**Figura 1** - Ridotta densità minerale ossea (BMD) nei topi con assenza totale del recettore del TSH (TSHR<sup>-/-</sup>) e eterozigoti (TSHR<sup>+/-</sup>). Per misurare la BMD ai siti indicati veniva usato un densitometro per piccoli animali Piximus (Lunar). Si segnala che i topi TSHR<sup>-/-</sup> supplementati con una dieta contenente estratti tiroidei, rendendo gli animali eutiroidei, non cambiava il fenotipo osteoporotico (da Ref. 9).

26). Negli ultimi 20-25 anni, sono state usate dosi più basse di L-tiroxina utilizzando la dose minima e personalizzata per ottenere una soppressione lieve di TSH, soprattutto nei pazienti con malattie tiroidee benigne. Questo ultimo dato può spiegare i risultati differenti ottenuti negli studi più vecchi e in quelli più recenti e suggerire che una minore soppressione di TSH può minimizzare il rischio di osteoporosi.

Studi longitudinali condotti in donne in premenopausa in terapia con L-tiroxina a dose soppressiva hanno documentato sia una riduzione della BMD a livello della colonna lombare che radiale (27-29) o nessun effetto negativo sull'osso (30, 31). Questi dati discordanti possono essere verosimilmente spiegati dalla diversa durata del follow-up nei vari studi longitudinali. Analogamente, dati contrastanti sono stati riportati anche nelle donne in postmenopausa con ipertiroidismo subclinico. Molti studi trasversali e longitudinali in donne in postmenopausa con ipertiroidismo subclinico hanno riportato una riduzione della BMD (12-16, 20, 32-41).

Gli effetti della terapia soppressiva con L-

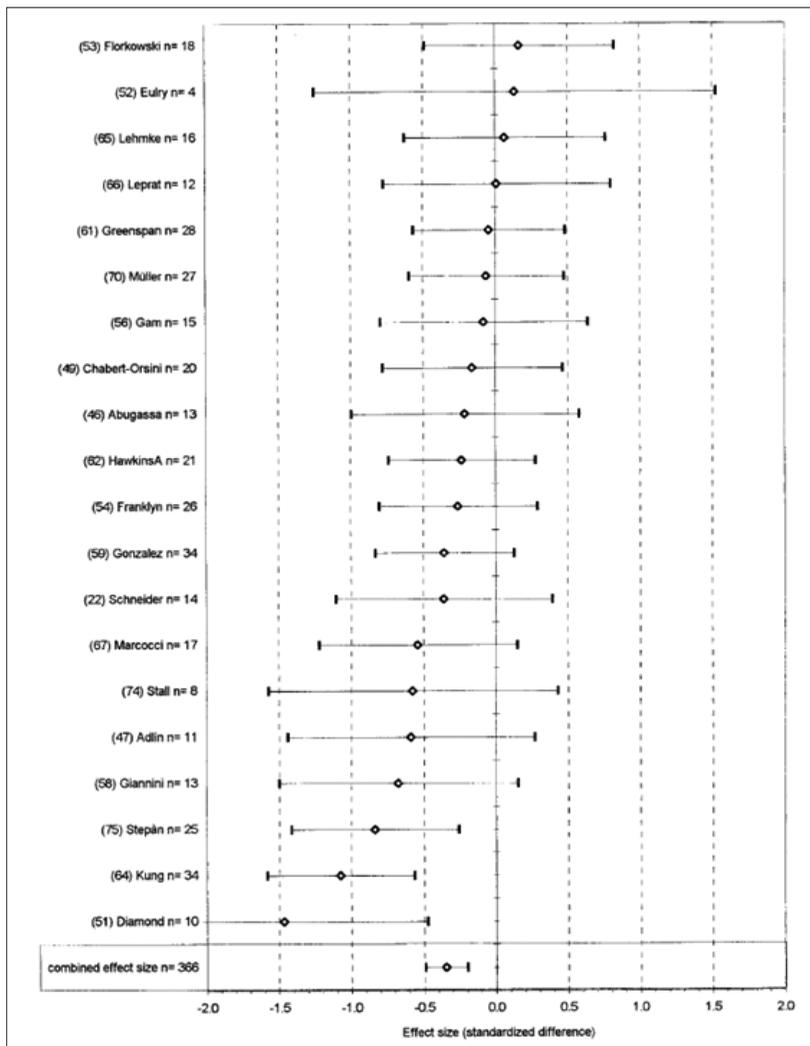
**Figura 2** - Confronto della densità minerale ossea espressa come normale, osteopenia e osteoporosi (secondo il T-score) e normale Z-score ( $Z > 1$ ) nei pazienti e nei controlli a livello del collo femorale (pannello sx) e colonna lombare (pannello dx) nel gruppo totale ( $n=80$ ), donne in premenopausa ( $n=44$ ) e in postmenopausa ( $n=44$ ). Le colonne rappresentano la percentuale dei pazienti in ciascun gruppo (da Ref. 36).



**Figura 3** - Valori individuali di densità minerale ossea espressa come Z score di 34 uomini in terapia soppressiva con L-tiroxina. Le bande orizzontali indicano il valore medio in ciascun sito di misura (da Ref. 26).

tiroxina in donne in pre e postmenopausa sono state valutate in due meta-analisi che hanno incluso pazienti con ipertiroidismo subclinico (13 e 41 studi trasversali, rispettivamente) (39, 40). In nessuno studio, nelle donne in premenopausa la terapia con L-tiroxina aveva effetti negativi sulla BMD (Figura 4). Tuttavia, nelle donne in postmenopausa, vi era una perdita significativa della BMD del 0,7-1,39% per anno rispetto a quella dei controlli, soprattutto a livello dell'osso corticale rispetto a quello trabecolare.

Gli effetti della soppressione del TSH sulla BMD sono controverse nei pazienti con carcinoma tiroideo differenziato (CTD) (41, 42). Gli effetti della soppressione del TSH possono essere maggiori in questi pazienti poiché vanno incontro ad una soppressione costante e a lungo termine. Una overview nelle donne in premenopausa con CDT in terapia soppressiva a lungo termine con L-tiroxina (media, 7,1 anni in otto studi) ha confermato che non vi era alcuna modifica o soltanto una lieve riduzione



**Figura 4** - Meta-analisi degli studi sugli effetti della terapia soppressiva con L-tiroxina sulla colonna lombare nelle donne in post-menopausa. Ciascun studio è visualizzato con il suo effetto considerando il 95% di intervallo di confidenza. L'ultima linea mostra l'effetto combinato degli studi (da Ref. 40).

della BMD (41). Tuttavia, nelle donne in postmenopausa i risultati rimangono ancora non chiari, con risultati contrastanti in due dei migliori studi controllati (15, 42). Tuttavia, nei due studi differiva l'introito di calcio con la dieta, essendo più elevato nello studio di Franklyn et al. (15). Al contrario, uno studio trasversale di 66 pazienti con CTD in pre e postmenopausa evidenziava che 28 pazienti in postmenopausa avevano valori più elevati di C-telopeptide di tipo 1 e di fosfatasi alcalina ossea e più bassi valori di BMD rispetto a quelli dei soggetti sani (43).

Heemstra et al. (44) ha esaminato 21 studi che includevano pazienti con CTD in terapia soppressiva con L-tiroxina a lungo termine; gli studi era stratificati secondo

il sesso e lo stato menopausale. I risultati hanno mostrato che la terapia soppressiva non determinava effetti negativi sulla BMD negli uomini e nelle donne in premenopausa, mentre vi era una perdita di massa ossea nelle donne in postmenopausa.

#### ***Ipertiroidismo subclinico e rischio di frattura***

Pochi studi hanno valutato il rischio di frattura nei pazienti trattati con L-tiroxina. Uno studio che ha incluso 300 donne bianche in postmenopausa (160 con malattia tiroidea e 40 senza) ha valutato se avere una malattia tiroidea o assumere L-tiroxina aumenta la prevalenza di fratture di femore, vertebrali e polso. 37 (23%) donne con malattia tiroidea e 45 (32%) donne senza malattia tiroidea

avevano una frattura (45). Non vi era una differenza significativa tra questi due gruppi nel numero e tipo di frattura. Tuttavia, la dose di L-tiroxina e la durata della terapia o malattia non determinava effetti sulla comparsa di fratture in donne con malattia tiroidea. Tuttavia, nelle donne con una storia di ipertiroidismo (9 di 32) o affette da carcinoma tiroideo (2 di 11) la comparsa della prima frattura avveniva significativamente in tempi più precoci rispetto a quelle senza malattia tiroidea. Sheppard et al. (46) in uno studio di popolazione e caso controllo ha valutato il rischio di frattura femorale in una larga serie di pazienti del Regno Unito a cui gli era stata prescritta la terapia con L-tiroxina. La frattura femorale era significativamente associata con la terapia con L-tiroxina, nei maschi, ma non nelle donne, dopo correzione per fattori confondenti. Tuttavia questo studio non selezionava i pazienti con TSH basso vs quelli con TSH normale. Bauer et al. (47) in uno studio prospettico ha valutato il rischio di fratture in 686 donne >65 anni con TSH basso selezionate da una serie di 9704 donne reclutate dal 1986 e 1988. Lo studio includeva donne con ipertiroidismo subclinico esogeno ed endogeno. Dopo aggiustamento per età, storia di ipertiroidismo e uso di estrogeni e ormone tiroideo, le donne con un TSH  $\leq 0,1$  mIU/ml avevano un rischio aumentato di 3

volte di frattura di femore e 4 volte di frattura vertebrale rispetto a quello delle donne che avevano valori normali di TSH. Le donne in terapia con L-tiroxina e con TSH tra 0,1-0,5 aveva un aumento del rischio di frattura. Tuttavia, i dati degli ormoni tiroidei liberi non erano riportati. Pertanto, non è noto se i pazienti con basso TSH avevano un ipertiroidismo subclinico o più severo.

## ■ CONCLUSIONI

La soppressione del TSH indotta dalla terapia con L-tiroxina probabilmente non ha effetti deleteri sulla BMD nelle donne in premenopausa o negli uomini, sebbene nei pazienti con CTD siano stati ottenuti risultati contrastanti. Nelle donne in postmenopausa, la terapia con L-tiroxina, può accelerare il turnover osseo, dipende dal grado di soppressione del TSH e dall'introito di calcio con la dieta.

I dati sul rischio di frattura sono inficiati da fattori confondenti ed in alcuni studi venivano inclusi pazienti con ipertiroidismo clinico. Pertanto, a tutt'oggi rimane da chiarire se l'ipertiroidismo subclinico e la terapia a lungo termine con L-tiroxina si associ ad un aumentato rischio di frattura, e se questo fosse il caso, occorre determinare quale sia il livello di TSH a cui questo rischio si determini.

## RIASSUNTO

In questo articolo saranno riassunti i risultati dei principali studi sull'effetto della terapia con L-T4 sulla BMD e sul rischio di frattura in donne in pre e postmenopausa e negli uomini.

La soppressione del TSH in terapia con L-T4 probabilmente non ha effetti deleteri sulla BMD nelle donne in premenopausa o negli uomini, con risultati contrastanti nei pazienti con carcinoma tiroideo differenziato. Nelle donne in post-menopausa, la terapia con L-tiroxina, può accelerare il turnover osseo, dipende dal grado di soppressione del TSH e dall'introito di calcio con la dieta. Dai contrastanti sono stati ottenuti sul rischio di frattura.

## ■ BIBLIOGRAFIA

1. Basset JH, Williams GR. Critical role of the hypothalamic-pituitary -thyroid axis in bone. *Bone*. 2008; 43: 418-426.
2. Basset JH, Williams GR. The molecular action of thyroid hormone in bone. *Trends Endocrinol Metab*. 2003; 14: 356-364.
3. Ongphiphadhanakul B, Alex S, Braverman LE, Baran DT. Excessive L-thyroxine therapy decreases femoral bone mineral densities in the male rat: effect of hypogonadism and calcitonin. *J Bone Miner Res*. 1992; 1227-1231.
4. Ross DS, Ardisson LJ, Nussbaum SR, Meskell MJ. Serum osteocalcin in patients taking L-thyroxine who have subclinical hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 1991; 72: 507-509.
5. Faber J, Overgaard K, Jarlov AE, Christiansen C. Bone metabolism in premenopausal

- women with nontoxic goiter and reduced serum thyrotropin levels. *Thyroidology*. 1994; 6: 27-32.
6. Guo CY, Weetman AP, Eastell R. Longitudinal changes of bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women on thyroxine. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1997; 46: 301-307.
  7. Harvey RD, McHardy KC, Reid IW, Paterson F, Bewsher PD, Duncan A, et al. Measurement of bone collagen degradation hyperthyroidism and during thyroxine replacement therapy using pyridinium cross-links as specific urinary markers. *J Clin Endocrinol Metab*. 1991; 72: 1189-1194.
  8. Loviselli A, Mastinu R, Rizzolo E, Massa GM, Velluzzi F, Sammartano L, et al. Circulating telopeptide type I is a peripheral marker of thyroid hormone action in hyperthyroidism and during levothyroxine suppressive therapy. *Thyroid*. 1997; 7: 561-566.
  9. Abe E, Marians RC, Yu W, Wu XB, Ando T, Li Y, et al. TSH is a negative regulator of skeletal remodeling. *Cell*. 2003; 115: 151-162.
  10. Van Rijn LE, Pop VJ, Williams GR. Low bone mineral density is related to high physiological levels of free thyroxine in perimenopausal women. *Eur J Endocrinol*. 2014; 170: 461-468.
  11. Ross DS, Neer RM, Ridgway EC, Daniels GH. Subclinical hyperthyroidism and reduced bone density as a possible result of prolonged suppression of the pituitary thyroid axis with L-thyroxine. *Am J Med*. 1987; 82: 1167-1170.
  12. Paul TL, Kerrigan J, Kelly AM, Braverman LE, Baran DT. Long-term L-thyroxine therapy is associated with decreased hip bone density in premenopausal women. *JAMA*. 1988; 259: 3137-3141.
  13. Taelman P, Kaufman JM, Janssen X, Vandecaeter H, Vermeulen A. Reduced forearm bone mineral content and biochemical evidence of increased bone turnover in women with euthyroid goitre treated with thyroid hormone. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1990; 107-117.
  14. Diamond T, Neri L, Hales I. A therapeutic dilemma suppressive doses of thyroxine significantly reduce bone mineral measurements in both premenopausal and postmenopausal women with thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 1991; 72: 1184-1188.
  15. Franklyn JA, Betteridge J, Daykin J, Holder R, Oates GD, Parle JV, et al. Long-term treatment and bone mineral density. *Lancet*. 1992; 340: 9-13.
  16. Gorres G, Kaim A, Otte A, Gotze M, Muller-Brand J. Bone mineral density in patients receiving suppressive doses of thyroxine or differentiated thyroid carcinoma. *Eur J Nucl Med*. 1996; 3: 690-692.
  17. Marcocci C, Golia F, Bruno-Bossio G, Vignali E, Pinchera A. Carefully monitored levothyroxine therapy is not associated with bone loss in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994; 78: 818-823.
  18. Reverter JL, Holgado S, Alonso N, Salinas I, Granada ML, Sanmarti A. Lack of deleterious effect on bone mineral density of long-term thyroxine suppressive therapy for differentiated thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer*. 2005; 12: 973-981.
  19. Florkowski CM, Brownlie BE, Elliot JR, Ayling EM, Turner JG. Bone mineral density in patients receiving suppressive doses of thyroxine for thyroid carcinoma. *N Z Med J*. 1993; 106: 443-444.
  20. Giannini S, Nobile M, Sartori L, Binotto P, Ciuffreda M, Gemo G, et al. Bone density and mineral metabolism in thyroidectomized patients treated with long-term thyroxine. *Clin Sci*. 1994; 87: 593-597.
  21. Garton M, Reid I, Loveridge N, Robins S, Murchison L, Beckett G, et al. Bone mineral density and metabolism in premenopausal women taking L-thyroxine replacement therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1994; 41: 747-755.
  22. De Rosa G, Testa A, Maussier ML, Calla C, Astazi P, Albanese C. A slight suppressive dose of L-thyroxine does not affect bone turnover and bone mineral density in pre- and postmenopausal women with nontoxic goiter. *Horm Metab Res*. 1995; 27: 503-507.
  23. Nuzzo V, Lupoli G, Del Puente E, Rampone E, Carpinelli A, Del Puente AE, et al. Bone mineral density in premenopausal women receiving levothyroxine suppressive therapy. *Gynecol Endocrinol*. 1998; 12: 333-337.
  24. Saggese G, Bertelloni S, Baroncelli GI, Costa S, Ceccarelli C. Bone mineral density in adolescent females treated with L-thyroxine; a longitudinal study. *Eur J Pediatr*. 1996; 155: 452-457.
  25. Larijani B, Gharibdoost F, Pajouhi M, Sadjadi A, Aghakhani S, Eshraghian R, et al. Effects of levothyroxine suppressive therapy on bone mineral density in premenopausal women. *J Clin Pharm Ther*. 2004; 29: 1-5.
  26. Marcocci C, Golia F, Vignali E, Pinchera A. Skeletal integrity in men chronically treated with suppressive doses of L-thyroxine. *J Bone Miner Res*. 1997; 12: 72-77.
  27. Mc Dermott MT, Perloff JJ, Kidd GS. A longitudinal assessment of bone loss in women with levothyroxine-suppressed benign thyroid disease and thyroid cancer. *Calcif Tissue Int*. 1995; 56: 521-525.
  28. Pioli G, Pedrazzoni M, Palummeri E, Sianesi M, Del Frate R, Vescovi PP, et al. Longitudinal study of bone loss after thyroidectomy and suppressive thyroxine therapy in premenopausal women. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1992; 126: 238-242.
  29. Jodar E, Begona Lopez M, Garcia L, Rigop-

- oulou D, Martinez G, et al. Bone changes in pre- and postmenopausal women with thyroid cancer on levothyroxine therapy: evolution of axial and appendicular bone mass. *Osteoporos Int.* 1998; 8: 311-316.
30. Larijani B, Gharibdoost F, Pajouhi M, Sadjadi A, Aghakhani S, Eshraghian R, et al. Effects of levothyroxinesuppressive therapy on bone mineral density in premenopausal women. *J Clin Pharm Ther.* 2004; 29: 1-5.
31. Mc Dermott MT, Perloff JJ, Kidd GS. A longitudinal assessment of bone loss in women with levothyroxine-suppressed benign thyroid disease and thyroid cancer. *Calcif Tissue Int.* 1995; 55: 521-525.
32. Muller CG, Bayley TA, Harrison JE, Tsang R. Possible limited bone loss with suppressible thyroxine therapy is to have clinical relevance. *Thyroid.* 1995; 5: 81-87.
33. Karner I, Hrgovic Z, Sijanovic S, Bukovic D, Klobucar A, Usadel KH, et al. Bone mineral density changes and bone turnover in thyroid carcinoma patients treated with supraphysiologic doses of thyroxine. *Eur J Med Res.* 2005; 10: 480-488.
34. Lehmke J, Bogner U, Felsenberg D, Peters H, Schleusener H. Determination of bone mineral density by quantitative computed tomography and single photon absorptiometry in subclinical hyperthyroidism: a risk of early osteopaenia in post-menopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1992; 36: 511-517.
35. Reverter JL, Holgado S, Alonso N, Salinas I, Granada ML, Sanmarti A. Lack of deleterious effect on bone mineral density of long-term thyroxine suppressive therapy for differentiated thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer.* 2005; 12: 973-981.
36. Florkowski CM, Brownlie BE, Elliot JR, Ayling EM, Turner JG. Bone mineral density in patients receiving suppressive doses of thyroxine for thyroid carcinoma. *NZ Med J.* 1993; 106: 443-444.
37. Gurlek A, Gedik O. Effect of endogenous subclinical hyperthyroidism on bone metabolism and bone mineral density in premenopausal women. *Thyroid.* 1999; 9: 539-543.
38. Bauer DC, Newitt MC, Ettinger B, Stone K. Low thyrotropin levels are not associated with bone loss in older women: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1977; 82: 2931-2936.
39. Faber J, Galloe AM. Changes in bone mass during prolonged subclinical hyperthyroidism due to L-thyroxine treatment: a metaanalysis. 1994.
40. Uzzan B, Campos J, Cucherat M, Nony P, Boissel JP, Perret GY. Effects on bone mass of long-term treatment with thyroid hormones: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81: 4278-4289.
41. Quan ML, Pasiaka JL, Rorstad O. Bone mineral density in well-differentiated thyroid cancer patients treated with suppressive thyroxine: a systematic overview of the literature. *J Surg Oncol.* 2002; 79: 62-69.
42. Kung AW, Lorentz T, Tam SC. Thyroxine suppressive therapy decreases bone mineral density in post-menopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1993; 39: 535-540.
43. Mazziotti G, Sorvillo F, Piscopo M, Cioffi M, Pilla P, Biondi B, et al. Recombinant human TSH modulates in vivo C-telopeptides of type-1 collagen and 2005.
44. Heemstra KA, Hamdy NA, Romijn JA, Smit JW. The effects of thyrotropin-suppressive therapy on bone metabolism in patients with well-differentiated thyroid carcinoma. *Thyroid.* 2006; 16: 583-591.
45. Solomon BL, Wartofsky L, Burman KD. Prevalence of fractures in postmenopausal women with thyroid disease. *Thyroid.* 1993; 3: 17-23.
46. Sheppard MC, Holder R, Franklyn JA. Levothyroxine treatment and occurrence of fracture of the hip. *Arch Intern Med.* 2002; 162: 338-343.
47. Bauer DC, Ettinger B, Nevitt MC, Stone KL. Risk for fracture in women with low serum levels of thyroid-stimulating hormone. *Ann Intern Med.* 2001; 134: 561-568.

# Gastroprotettori

## Proton-pump inhibitors

V. Braga

Centro Osteoporosi, ULSS 20 Verona

### SUMMARY

Proton-pump inhibitors (PPIs) are the most widely prescribed therapies worldwide. They used to treat several gastrointestinal disorders. In 2010 the Food and Drug administration (FDA) issued a safety alert regarding a possible increased of bone fracture risk with PPIs use. Many observational, including prospective studies have been conducted, but the results have been inconsistent.

The aim of this study was to perform an upgrade of the most relevant studies about this relationship. The conclusions show that PPIs use was associated with a modestly increased risk of spine, hip, and any-site fracture.

Reumatismo, 2016; 68 (S3): 35-38

### ■ PREMESSE

I farmaci inibitori della pompa protonica (PPI) sono stati introdotti nel 1989 nel trattamento patologie gastro-intestinali, principalmente per la terapia dell'ulcera gastroduodenale e del reflusso gastro-esofageo e sono assunti in maniera cronica anche come gastroprotettori in associazione con gli antiinfiammatori (1-3). Nella pratica clinica i PPI sono tra i farmaci più prescritti al mondo e sebbene siano generalmente ben tollerati dalla maggioranza dei pazienti, tuttavia, sulla scorta dei dati di letteratura, è cresciuta la preoccupazione sulla potenziale associazione tra il loro utilizzo ed un aumento del rischio di frattura. Nel 2010 relativamente a questo problema, la Food and Drug Administration (FDA) ha pubblicato un "alert" sulla sicurezza dei PPI, raccomandandone l'utilizzo ai pazienti nei quali l'indicazione risulta appropriata, nonché al minimo dosaggio efficace e per il minor tempo necessario, in attesa di ulteriori dati (4).

### ■ PPI E RISCHIO DI FRATTURA

L'utilizzo di inibitori di pompa protonica (PPI) è stato correlato con un potenziale aumento del rischio di frattura. Infatti in molti studi osservazionali è emersa l'associazione fra questi farmaci e le fratture da fragilità (5-9). Il grado di evidenza comun-

que è piuttosto basso essendo i risultati variabili in relazione anche al tipo di frattura e al tempo di esposizione al farmaco. Alcuni studi hanno mostrato una associazione più evidente con le fratture di femore, altri con le fratture vertebrali cliniche o con qualsiasi tipo di frattura.

In una recente metanalisi (10) sono stati valutati i risultati degli studi osservazionali più rilevanti condotti a livello internazionale (Europa, USA, Canada, Australia) e che includevano oltre 200.000 eventi fratturativi.

In tutti gli studi si è riscontrata in maniera consistente una moderata e significativa associazione fra l'utilizzo di PPI e l'aumento generalizzato del rischio di frattura per tutti i siti scheletrici considerati: a livello del femore (RR 1,26, 95% CI 1,16-1,36), della colonna (RR 1,58, 95% CI 1,38-1,82), e di ogni altra sede (RR 1,33, 95% CI 1,15-1,54). L'associazione tra PPI e rischio di frattura al femore è risultata essere anche indipendente dalla tipologia dello studio, dalla sede geografica, dal sesso e dall'apporto di calcio. Dai dati di lavori precedenti appariva critico sull'effetto scheletrico, se il periodo di assunzione di questi farmaci fosse superiore a un anno. In questa analisi invece emerge, per la prima volta, che l'aumento del rischio di frattura, perlomeno a livello del femore, è presente in maniera indipendente dalla durata della terapia con PPI.

Indirizzo per la corrispondenza:  
V. Braga  
E-mail: vania.braga971@gmail.com

## ■ MECCANISMO D'AZIONE BIOLOGICO DEI PPI

La metanalisi di Kwok (11) focalizzata sullo studio del rischio di frattura raffrontato tra soggetti in PPI verso soggetti non-PPI, ha riportato che vi è una moderata associazione tra utilizzo di PPI ed eventi fratturativi in particolare a livello vertebrale. Il meccanismo biologico attraverso il quale i PPI agiscono sulla densità minerale ossea e aumentano il rischio di frattura non è ancora del tutto chiarito (11, 12).

Tra le varie ipotesi quella prevalente suggerisce che questi farmaci possano favorire la perdita minerale ossea riducendo l'assorbimento intestinale di calcio. Tuttavia i dati disponibili non sono sempre confermati in maniera univoca o possono anche essere contraddittori (13-15). I PPI sono dei potenti inibitori della secrezione acida gastrica, che è ritenuta un fattore indispensabile per l'assorbimento di calcio. Il calcio carbonato, che rappresenta la maggior fonte di calcio assunto con la dieta, ad elevati valori di pH risulta insolubile.

In realtà l'assorbimento del calcio a livello dell'ileo è influenzato da numerosi altri fattori oltre che dal pH gastrico.

Questo meccanismo tuttavia non sembra poter giustificare in maniera adeguata il fatto che una rapida soppressione dell'acidità gastrica si associ a variazioni del bilancio calcico tali da causare un aumento del rischio di frattura (14). In aggiunta i dati di una metanalisi più recente (10) evidenziano che, anche una breve esposizione ai PPI (inferiore a un anno) possa associarsi ad un aumentato rischio di frattura a livello femorale e, pertanto il meccanismo biochimico appare poco sostenibile.

Potrebbero essere verificabili altre ipotesi relative a un qualche effetto diretto sulla mineralizzazione dell'osso o sulla qualità dell'osso, che comunque necessitano di ulteriori conferme. Un altro meccanismo ancora da definire derivante da studi condotti in vitro e sugli animali, potrebbe essere rappresentato da un'alterazione del rimodellamento osseo attraverso l'inibizione diretta della pompa protonica H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPasi sugli osteoclasti da parte dei PPI (11, 16, 17).

## ■ I PPI PREDICONO IL RISCHIO DI FRATTURA

Le fratture osteoporotiche incidenti non sono infrequenti nei pazienti in terapia con bisfosfonati (BP): circa il 10% dei soggetti trattati potrebbe incorrere in una nuova frattura da fragilità entro cinque 5 anni dall'inizio della terapia e, persino nella situazione ideale di elevata compliance (MPR ≥80%), il 3,4% dei trattati può fratturarsi annualmente in corso di terapia (18).

In base agli studi epidemiologici e retrospettivi i PPI come altre classi di farmaci, rappresentano potenziali fattori di rischio di frattura in corso di trattamento con bisfosfonati (19).

I PPI In maniera analoga al deficit di vitamina D, risultano essere dei fattori predittivi reversibili del rischio di frattura.

In base alle più recenti evidenze, nonostante l'aderenza ai BP risulti elevata, i soggetti più anziani e sottopeso, che abbiano una storia clinica caratterizzata da pregresse fratture, malattie reumatologiche, nonché in carenza di vitamina D e in terapia con PPI risultano essere esposti ad un rischio particolarmente elevato di frattura (18). In particolare la probabilità di rifratturarsi risulta superiore nei pazienti con una frattura da fragilità riportata entro i primi sei mesi di trattamento con BP. Proprio in questo sottogruppo di pazienti con una frattura recente, il deficit di vitamina D e la terapia con PPI spiegherebbero ben il 13% delle fratture osservate durante il primo anno di terapia con BP.

## ■ INTERAZIONE TRA PPI E BP

In passato l'analisi dell'interferenza dei PPI sull'effetto antifratturativo dei bisfosfonati aveva prodotto in generale un aumentato rischio di frattura anche se con risultati non sempre univoci (11, 18, 20-23). Uno studio di coorte ha riportato che la co-somministrazione di BP e di PPI ai dosaggi abituali risulterebbe, perlomeno nella popolazione anziana, in una attenuazione finale dose-dipendente dell'effetto antifratturativo (21). Lee nel 2013 ha riportato che il rischio di frattura di femore appare significativamente

più elevato nei soggetti in trattamento con BP piuttosto che in quelli non in BP, come se il rischio di frattura nei pazienti in PPI derivasse principalmente dall'interazione BP-PPI (24). In altri lavori invece è risultato che il risedronato determina un aumento dei valori della massa ossea (BMD) e riduce in maniera significativa il rischio di nuove fratture vertebrali rispetto al placebo, nonostante l'assunzione di PPI (22, 23).

Nella metanalisi più recente di Yang (25) al fine di valutare l'associazione tra esposizione all'utilizzo concomitante di BP/PPI e rischio di frattura, sono stati raffrontati gli eventi fratturativi registrati nei soggetti in terapia concomitante con BP/PPI e in quelli in terapia con soli BP nel corso di studi osservazionali selezionati (randomizzati, casi-controllo o di coorte). In generale si assiste ad un aumento del rischio fratturativo per tutte le fratture, ed in particolare per le fratture vertebrali.

Il limite di tutti questi studi deriva dall'eterogeneità relativamente all'entità del rischio, che può variare a seconda della razza (il rischio cala dal 94% al 24% se si considera Asia o Europa, l'Asia risulta più esposta), del sesso, del tipo di popolazione inclusa negli studi, della durata del follow-up (da 1 mese a 3,5 anni), del tipo di bisfosfonato assunto, del tipo di frattura, delle fratture al basale, del range di età per cui verosimilmente la popolazione più anziana è quella più esposta al rischio di cadute e di frattura. Un'altra limitazione di questa metanalisi è rappresentata dalla presenza di tutta una serie di eventuali fattori confondenti non-controllati, che possono

aver condotto ad una sovrastima del rischio di frattura, come età, BMI, peso, altezza, fumo, alcool, storia di pregresse fratture, apporto di calcio o terapie concomitanti. Relativamente a questi ultimi aspetti della terapia, secondo quanto riportato da alcuni lavori, non sembra che il rischio di frattura associato ai PPI venga eliminato dall'assunzione di un elevato apporto di supplementi di calcio (26, 27). Altri dati particolarmente interessanti inoltre hanno evidenziato che la terapia cortisonica può essere in grado di determinare un aumento dose-dipendente del rischio di frattura nei soggetti in terapia concomitante con inibitori di pompa protonica (28).

I limiti degli studi e queste nuove informazioni richiedono di essere esplorati mediante studi ad hoc randomizzati-controllati sugli effetti dell'interazione tra BP e PPI sull'incidenza di frattura.

## ■ CONCLUSIONI

Questi risultati suggeriscono che vi è un'interazione tra BP e utilizzo di PPI, associata ad un aumento del rischio di frattura, nonostante non sia ancora definito il razionale fisiopatologico degli inibitori di pompa protonica e nonostante l'eterogeneità degli studi.

I BP non sembrano in grado di annullare l'aumento del rischio di frattura derivante dall'esposizione ai PPI e, pertanto viene confermata l'importanza di considerare nella pratica clinica, il ruolo potenzialmente fragilizzante dei PPI, in particolare nei pazienti ad elevato rischio di frattura.

## RIASSUNTO

Gli inibitori di pompa protonica (PPI) sono tra i farmaci più prescritti al mondo e sebbene siano generalmente ben tollerati dalla maggioranza dei pazienti, tuttavia, sulla scorta dei dati di letteratura, è cresciuta la preoccupazione sulla potenziale associazione tra il loro utilizzo ed un aumento del rischio di frattura. Nel 2010 relativamente a questo problema, la Food and Drug Administration (FDA) ha pubblicato un "alert" sulla sicurezza dei PPI, raccomandandone l'utilizzo ai pazienti nei quali l'indicazione risulti appropriata, nonchè al minimo dosaggio efficace e per il minor tempo necessario, in attesa di ulteriori dati. In molti studi osservazionali è emersa l'associazione fra questi farmaci e le fratture da fragilità seppur con risultati variabili.

Lo scopo di questo studio è stato quello di fare un aggiornamento sulla scorta degli studi più rilevanti. In conclusione emerge in maniera consistente, che l'utilizzo di PPI si associa ad un significativo aumento del rischio fratturativo a livello della colonna, del femore e di qualsiasi altra sede scheletrica.

## ■ BIBLIOGRAFIA

1. Kushner PR, Peura DA. Review of proton pump inhibitors for the initial treatment of heartburn: is there a dose ceiling effect? *Adv Ther*. 2011; 28: 367-88.
2. Monnikes H, Schwan T, van Rensburg C, et al. Possible etiology of improvements in both quality of life and overlapping gastroesophageal reflux disease by proton pump inhibitor treatment in a prospective randomized controlled trial. *BMC Gastroenterol*. 2013; 13: 145.
3. Tsoi KK, Hirai HW, Sung JJ. Meta-analysis: comparison of oral vs. intravenous proton pump inhibitors in patients with peptic ulcer bleeding. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013; 31: 721-8.
4. FDA Drug Safety Communication. Possible increased risk of fracture of the hip, wrist, and spine with the use of proton pump inhibitors U.S. Food and Drug Administration, Rockville. 2010.
5. Ye X, Liu H, Wu C, et al. Proton pump inhibitors therapy and risk of hip fracture: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2011; 23: 794-800.
6. Yu EW, Bauer SR, Bain PA, et al. Proton pump inhibitors and risk of fractures: a meta-analysis of 11 international studies, *Am J Med*. 2011; 124: 519-26.
7. Eom CS, Park SM, Myung SK, et al. Use of acid-suppressive drugs and risk of fracture: a meta-analysis of observational studies. *Ann Fam Med*. 2011; 9: 257-67.
8. Ngamruengphong S, Leontiadis GI, Radhi S, et al. Proton pump inhibitors and risk of fracture: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Am J Gastroenterol*. 2011; 106: 1209-18.
9. Fraser LA, Leslie WD, Targownik LE, CaMos Research Group, et al. The effect of proton pump inhibitors on fracture risk: report from the Canadian Multicenter Osteoporosis Study. *Osteoporos Int*. 2013; 24: 1161-8.
10. Zhou B, Huang Y, Li H, et al. Proton-pump inhibitors and risk of fractures: an update meta-analysis. *Osteoporos Int*. 2016; 27: 339-347.
11. Kwok CS, Yeong JK, Loke YK. Meta-analysis: Risk of fractures with acid-suppressing medication. *Bone*. 2011; 48: 768-76.
12. Targownik LE, Lix LM, Leung S, Leslie WD. Proton pump inhibitors use is not associated with osteoporosis or accelerated bone mineral density loss. *Gastroenterology*. 2010; 138: 896-904.
13. Yang YX, Lewis JD, Epstein S, Metz DC. Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture. *JAMA*. 2006; 296: 2947-53.
14. Corley DA, Kubo A, Zhao W, Quesenberry C. Proton pump inhibitors and histamine-2 receptor antagonists are associated with hip fractures among at-risk patients. *Gastroenterology*. 2010; 139: 93-101.
15. O'Connell MB, Madden DM, Murry AM, et al. Effects of proton pump inhibitors on calcium carbonate absorption in women: a randomized crossover trial. *Am J Med*. 2005; 118: 778-81.
16. Farina C, Gagliardi S. Selective inhibition of osteoclast vacuolar H(+)-ATPase. *Curr Pharm Des*. 2002; 8: 2033-48.
17. Sahara T, Itoh K, Debari K, Sasaki T. Specific biological function of vacuolar-type H(+)-ATPase and lysosomal cysteine proteinase cathepsin K in osteoclasts. *Anat Rec Discov Mol Evol Biol*. 2003; 270: 152-61.
18. Prieto-Alhambra D, Pages-Castella A, Wallace G, et al. Predictors of fracture while on treatment with oral bisphosphonates: a population-based cohort study. *J Bone Miner Res*. 2014; 29: 268-74.
19. Adami et al. Linee guida per la diagnosi, Prevenzione e Terapia dell'Osteoporosi. *Reumatismo*. 2009; 61: 1-25.
20. de Vries F, Cooper AL, Cockle SM, et al. Fracture risk in patients receiving acid-suppressant medication alone and in combination with bisphosphonates. *Osteoporos Int*. 2009; 20: 1989-8.
21. Abrahamsen B, Eiken P, Eastell R. Proton pump inhibitor use and the antifracture efficacy of alendronate. *Arch Intern Med*. 2011; 171: 998-1004.
22. Roux C, Goldstein JL, Zhou X, et al. Vertebral fracture efficacy during risedronate therapy in patients using proton pump inhibitors. *Osteoporos Int*. 2012; 23: 277-84.
23. Itoh S, Sekino Y, Shinomiya K, Takeda S. The effects of risedronate administered in combination with a proton pump inhibitor to the treatment of osteoporosis. *J Bone Miner Res*. 2013; 31: 206-11.
24. Lee J, Youn K, Choi NK, et al. A population-based case-control study: proton pump inhibition and risk of hip fracture by use of bisphosphonates. *J Gastroenterol*. 2013; 48: 1016-22.
25. Yang S-D, Chen Q, Wei H-K, et al. Bone fracture and the interaction between bisphosphonates and proton pump inhibitors: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8: 4899-910.
26. Gray SL, LaCroix AZ, Larson J, et al. Proton pump inhibitor use, hip fracture, and change in bone mineral density in postmenopausal women: results from the Women's Health Initiative. *Arch Intern Med*. 2010; 170: 765-71.
27. Khalili H, Huang ES, Jacobson BC, et al. Use of proton pump inhibitors and risk of hip fracture in relation to dietary and lifestyle factors: a prospective cohort study. *BMJ*. 2012; 344, e372.
28. Pouwels S, Lalmohamed A, Souverein P, et al. Use of proton pump inhibitors and risk of hip/femur fracture: a population-based case-control study. *Osteoporos Int*. 2011; 22: 903-10.

# Diuretici

## Diuretics

R. Caudarella<sup>1</sup>, F.M. Ulivieri<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Casa di Cura Villalba –GVM Care and Research, Bologna.

<sup>2</sup>Fondazione Irccs Ca'Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano

### SUMMARY

Among the causes of secondary osteoporosis, those from drugs are often neglected; among these are diuretics, in particular, loop diuretics and thiazides. Loop diuretics, which have been studied in only a few papers, act by increasing the urinary excretion of calcium, leading to a possible reduction in bone mineral density, a well known risk factor for fractures. Loop diuretics act by increasing the urinary calcium excretion with a consequent increase in the plasma level of the PTH and in the bone resorptive activity.

Instead, thiazide diuretics, commonly utilized for the treatment of both hypertension and idiopathic hypercalciuria, decrease the urinary excretion of calcium, demonstrating their ability to increase the bone mineral density as well as to decrease the risk of fractures, in particular of the femur. The literature regarding the relationships between thiazides and bone is more abundant and indicates several mechanisms by means of which thiazides influence bone health. In fact, thiazides inhibits the sodium chloride cotransporter in the distal tubule increasing the sodium urinary excretion and decreasing urinary calcium excretion. Still thiazides contribute to maintain calcium homeostasis increasing calcium intestinal absorption. Moreover, thiazides prevent bone loss through a direct effect on osteoblast-mediated bone formation (by means of the NCC protein responsible for NaCl cotransport) and on osteoclast-mediated reabsorption (by means of carbonic anhydrase). However, inhibition of the NCC also leads to an increase in the renal excretion of sodium, potentially inducing hyponatremia which has recently been associated with an increase in the risk of falling and of fractures, in particular, of the vertebra, even if the latter aspect is still a vexed question.

*Reumatismo, 2016; 68 (S3): 39-51*

### ■ INTRODUZIONE

L' aumento dell'aspettativa di vita nella popolazione generale ha portato ad un progressivo incremento di numerose patologie croniche quali malattie cardiovascolari, ipertensione arteriosa, diabete mellito, sindrome metabolica ed osteoporosi. Alcuni studi recenti (1, 2) hanno suggerito la presenza di meccanismi patogenetici comuni tra malattie metaboliche dell'osso e patologie cardiovascolari in quanto presentano fattori di rischio comuni quali età avanzata, menopausa, diabete e stili di vita (per esempio fumo di sigaretta, dieta e scarsa attività fisica). Poiché ipertensione ed osteoporosi sono patologie frequentemente associate negli adulti anziani, conoscere gli effetti dei farmaci prescritti in questa categoria di pazienti sulla densità minerale ossea può essere estremamente utile per

selezionare la terapia più adatta per il paziente. La Joint National Committee (JNC) on Hypertension ha pubblicato una serie di raccomandazioni per il trattamento dell'ipertensione e sin dal 2003 i diuretici tiazidici venivano indicati come gruppo di farmaci che oltre al trattamento dell'ipertensione inducevano un miglioramento nella densità minerale ossea (BMD) (3). Inoltre, Yang et al. (4) hanno dimostrato che l'ipertensione arteriosa è un fattore di rischio per le fratture osteoporotiche, indipendentemente dal valore della densità minerale ossea (BMD) e che questa tendenza si associa con una accelerata perdita di massa ossea nelle donne caucasiche anziane (5). In un vasto studio di coorte, che includeva circa 50.000 adulti con un follow-up di 5 anni, è stato osservato che l'insufficienza cardiaca, diagnosticata di recente, si accompagna ad un aumento del 30% del rischio di frat-

Indirizzo per la corrispondenza:  
R. Caudarella  
E-mail: renata.caudarella@alice.it

ture osteoporotiche maggiori, indipendentemente dal valore della BMD (6). I diuretici svolgono un ruolo fondamentale nella terapia delle condizioni che si associano ad un sovraccarico di volume che includono oltre allo scompenso cardiaco, la sindrome nefrosica e la cirrosi, migliorando i sintomi legati alla ritenzione idrica. Molti farmaci usati per il trattamento dello scompenso cardiaco e della ipertensione arteriosa (es. diuretici tiazidici e dell'ansa di Henle, ACE-inibitori, beta bloccanti, nitrati etc.) sembrano poter influire sulla salute dell'osso e sul rischio di fratture (7). In questo capitolo verrà esaminato il ruolo svolto dai diuretici sul metabolismo minerale e sul tessuto osseo; numerosi lavori in letteratura indicano che la terapia con alcuni diuretici sembra poter modificare l'omeostasi del calcio e del metabolismo osseo mediante la loro capacità di influire sulla escrezione urinaria di calcio (8-10), la quale è diversa a seconda del diuretico usato. Infatti, mentre i diuretici tiazidici inducono una riduzione della escrezione urinaria del calcio, i diuretici dell'ansa l'aumentano.

### ■ CONCETTI GENERALI

La classificazione dei diuretici si può basare su diverse caratteristiche quali intensità

dell'effetto diuretico, influenza sulla escrezione del potassio, sede e meccanismo di azione dei diuretici. Nella tabella I sono riportati i diuretici di uso più comune, in rapporto alla loro sede di azione. I diuretici che hanno dimostrato di avere un'azione sull'omeostasi del calcio e sull'osso sia in vitro che in vivo sono i diuretici tiazidici e i diuretici dell'ansa, anche se il ruolo di questi ultimi è stato valutato in pochi studi. Da segnalare, per ultimo, uno studio in vitro sull'azione dell'Amiloride che ha mostrato di inibire marcatamente l'osteoclastogenesi senza esercitare effetti citotossici. L'amiloride ridurrebbe l'espressione indotta da RANKL dei geni dei markers osteoclastici e l'espressione del NFATc1, che è il principale regolatore dell'osteoclastogenesi. Inoltre l'amiloride avrebbe un ruolo di inibizione dell'attivazione di p38, ERK e di JNK indotta da RANKL, e sulla degradazione IκB (11).

### ■ DIURETICI DELL'ANSA DI HENLE

La furosemide è il diuretico più usato della classe dei diuretici dell'ansa. Tuttavia il suo uso è complicato dall'assorbimento estremamente irregolare, con un range di biodisponibilità compreso tra il 12% e il 112% (12). Il coefficiente di variazione per l'assorbimento varia dal 25% al 43% nei diversi prodotti generici di furosemide e ne segue che il cambio da una formulazione ad un'altra può comportare un diverso assorbimento (e quindi una diversa risposta) al trattamento con furosemide per via orale (12). La bumetanide e soprattutto la torsemide, hanno un assorbimento più prevedibile della furosemide. L'uniformità di assorbimento e la maggior durata di azione sono le caratteristiche farmacologiche che la fanno distinguere dagli altri diuretici di questa classe (13). Il ruolo dei diuretici dell'ansa sulla BMD, sul turnover osseo e rischio di fratture è stato valutato in un numero limitato di studi e la loro azione negativa sull'osso è stata collegata all'aumento della escrezione urinaria di calcio con conseguente riduzione della densità minerale ossea (BMD) (14, 15). I diuretici dell'ansa

Tabella I - Classificazione dei diuretici.

Tipo di Diuretico	Farmaci	Sede di azione	Molecola bersaglio
Inibitori della Anidraasi Carbonica	Acetazolamine Brinzolamide Diclorfenamide Metazolamide	Tubulo contorto prossimale	Anidraasi Carbonica (luminale ed intracellulare)
Diuretici dell'ansa	Furosemide Bumetanide Torasemide Acido Etacrinico	Ansa di Henle (tratto ascendente spesso)	Cotrasportatore Na <sup>+</sup> K <sup>+</sup> 2Cl <sup>-</sup>
Tiazidici e Diuretici simil-tiazidici	(Chlorotiazide) Idroclorotiazide Clopamide Indapamide Clortalidone	Tubulo contorto distale	Cotrasportatore Na <sup>+</sup> K <sup>+</sup> 2Cl <sup>-</sup>
Antagonisti canale del Na	Amiloride Triamterene	Tubulo contorto distale Dotto collettore	Canale epiteliale del calcio
Antagonisti Aldosterone	Spirolattone Canreonato	Tubulo contorto distale Dotto collettore	Recettore dei mineralcorticoidi

(LD) quali furosemide, torasemide, azosemide e bumetanide agiscono a livello del tratto spesso della branca ascendente dell'ansa di Henle, dove viene riassorbito dal 20% al 30% del NaCl filtrato a livello glomerulare. I LD si legano alla proteina di trasporto del Na-K-2Cl ed inibiscono la sua azione compromettendo il riassorbimento di Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> con conseguente maggior apporto di Na<sup>+</sup> a livello del tubulo distale: aumenta quindi lo scambio di ioni Na<sup>+</sup> con gli ioni K<sup>+</sup>, con conseguente promozione della secrezione di K<sup>+</sup> nel tubulo distale (16). Queste modificazioni riducono il potere di concentrazione renale. Ooms et al. nel 1993, (17) in uno studio cross-sectional hanno esaminato gli effetti dei diuretici dell'ansa sia sulla BMD che sul rischio di fratture osteoporotiche. I risultati hanno dimostrato nei soggetti trattati con diuretici dell'ansa, rispetto ai soggetti non trattati, una riduzione della BMD a livello del femore pari al 5%, associato ad un aumento del rischio di fratture osteoporotiche (RR =2,5; 95% CI 1,1-5,7). Un risultato simile è stato ottenuto anche da Heidrich et al. (18) che hanno osservato un aumento di 4 volte del rischio di fratture di femore. Viceversa, in altri due studi caso-controllo, gli autori non sono stati in grado di trovare un legame tra uso dei diuretici dell'ansa e rischio di fratture (19, 20). I diuretici dell'ansa possono anche provocare ipotensione ortostatica (21), che è stata associata con le cadute in alcuni studi ma non in tutti (21). Tuttavia anche i dati più recenti della letteratura sull'associazione tra uso di diuretici dell'ansa, BMD, cadute e fratture restano contrastanti: in uno studio cross-sectional di 140 donne in menopausa, non è stata trovata alcuna associazione tra uso dei diuretici dell'ansa e BMD (22). In questo lavoro gli autori hanno indagato 140 donne trattate con LD per più di 2 anni con 140 donne di pari età che non assumevano terapia diuretica. Il trattamento con LD provocava un aumento significativo della calciuria e dei livelli plasmatici del paratormone e del 1,25(OH)<sub>2</sub>D. IL valore della BMD era simile nei due gruppi. Gli autori concludevano che l'aumento della calciuria nei pazienti trattati con LD veniva compensato

da un aumento del PTH con conseguente incremento della sintesi di 1,25 (OH)<sub>2</sub>D; di conseguenza, il bilancio del calcio non era complessivamente alterato e non si osservavano effetti maggiori a carico del metabolismo osseo. In un trial successivo randomizzato controllato che includeva 87 donne trattate con Bumetanide o con placebo per un anno, gli stessi autori (23) hanno osservato una riduzione della BMD nel gruppo trattato con Bumetanide rispetto al gruppo di controllo, la quale risultava del 2% a livello del femore totale e del tratto ultradistale dell'avambraccio, e dell'1,4% a livello del Total Body. Veniva confermato l'aumento della calciuria (+17%) e della concentrazione plasmatica del PTH (+9%). Inoltre, anche i livelli dei markers biochimici del turnover osseo differivano in maniera statisticamente significativa nei due gruppi (-20%). Gli autori concludevano quindi che la perdita di massa ossea, conseguente all'aumento del turnover osseo, anche se moderata ma protratta nel tempo, poteva avere un impatto significativo sulla BMD offrendo così una spiegazione all'aumento del rischio di frattura osservato negli studi epidemiologici di Ooms ME et al. (17) e di Heidrich FE et al. (18).

L'aumento del turnover osseo nei pazienti in terapia con LD è stato di recente esaminato da Ruiter L et al. (24) che hanno valutato l'escrezione urinaria delle desossipiridinoline libere come markers del riassorbimento osseo in un gruppo di 538 soggetti reclutati per il Rotterdam Study. Un sottogruppo dei partecipanti era stato usato per uno studio caso-controllo mettendo a confronto soggetti con fratture non vertebrali e soggetti senza questo tipo di fratture. I partecipanti venivano poi suddivisi in 3 gruppi a seconda del tipo di terapia diuretica usata: nessuna terapia diuretica, uso di diuretici tiazidici o di LD. Il periodo di trattamento era breve (<42 giorni) e l'escrezione di piridinoline libere (FDP) risultava aumentata solo nei soggetti trattati con i LD. L'aumentata escrezione di FDP rifletteva verosimilmente l'aumentato riassorbimento osseo da parte degli osteoclasti. I LD aumentano l'escrezione urinaria di calcio bloccando il cotrasportatore Na-

K-Cl, nel tratto spesso della branca ascendente dell'ansa di Henle con conseguente riduzione del potenziale positivo nel lume tubulare che diminuisce il riassorbimento del calcio (25). Per compensare la riduzione della calcemia nel siero viene stimolata la produzione del PTH che induce sia un aumento dell'assorbimento intestinale di calcio sia un aumento dell'attività degli osteoclasti (25). L'osservazione di un aumento dei livelli di FDP è quindi in accordo con l'ipotesi che l'uso dei LD abbia un'azione di stimolo sugli osteoclasti. Carbone et al. (21) nel contesto di un più ampio studio prospettico che raccoglie in modo sistematico l'esposizione ai farmaci, il valore della BMD, le cadute e gli esiti di fratture, hanno esaminato le possibili relazioni tra uso di LD e modificazioni della BMD, delle cadute e fratture in pazienti arruolate nel Women's Health Initiative (WHI), includendo donne con o senza scompenso cardiaco congestizio. I risultati dello studio di Carbone et al. (21), dopo aggiustamento per i fattori confondenti, non hanno mostrato una associazione significativa tra soggetti che assumevano regolarmente i LD e modificazioni della BMD, delle cadute o delle fratture nelle donne in menopausa dello studio WHI. Tuttavia, in queste pazienti il prolungato uso di LD si associava con un maggior rischio di fratture nelle donne in menopausa. Va ricordato che i LD sono molto frequentemente assunti da donne in condizioni di salute compromesse, già a rischio di cadute, fratture e perdita di massa ossea, sia per la patologia di base sia per altre condizioni di comorbilità associate.

### ■ DIURETICI TIAZIDICI

I diuretici tiazidici sono stati introdotti nella pratica clinica nel 1958 per il trattamento della ipertensione essenziale (25). Indicati in generale col termine comune di "Tiazidici" (TZD), questa classe di farmaci include i tiazidici veri (Clorotiazide, Idroclorotiazide, Bendroflumetazide, etc.), i diuretici simil-tiazidici (Clortalidone) e le indoline (Indapamide) (Tabella I) (25). La terapia con diuretici tiazidici non solo è efficace per il trattamento dell'ipertensione

arteriosa, ma riduce anche la morbilità e la mortalità associate all'ipertensione. Inoltre TZD vengono usati, anche se in misura minore, nelle condizioni caratterizzate da un sovraccarico di volume quali lo scompenso cardiaco (HF), la sindrome nefrosica e la cirrosi epatica, migliorando i sintomi legati alla ritenzione idrica. L'effetto diuretico dei TZD è moderato, in quanto solo il 5% del GFR è riassorbito nel tubulo contorto distale. I diuretici Tiazidici sono secreti nel tubulo contorto prossimale, quindi arrivano fino al tubulo contorto distale (TCD), che rappresenta la loro sede di azione, inibendo il cotrasportatore  $\text{Na}^+ \text{Cl}^-$  presente nella membrana luminale delle cellule del TCD. Questa proteina di trasporto è il Cotrasportatore  $\text{Na}^+ \text{Cl}^-$  (NCC) ed è espresso dalla famiglia dei geni che codificano per i cotrasportatori cationi-cloro (26). Il NCC è responsabile del trasporto della maggior parte del  $\text{NaCl}$  e la sua inibizione induce un aumento della escrezione renale del sodio. L'aumento dell'apporto distale di  $\text{Na}^+$  indotto dall'inibizione del NCC aumenta il riassorbimento distale del  $\text{Na}^+$  con conseguente aumento del potenziale negativo all'interno del lume, favorendo la secrezione di K e H. I diuretici tiazidici riducono inoltre l'escrezione urinaria di calcio e aumentano la concentrazione plasmatica del calcio (27). Il ruolo del NCC nell'omeostasi del calcio è stata suggerita dall'osservazione che mutazioni genetiche di NCC erano presenti nella sindrome di Gitelman, caratterizzata dalla perdita renale di  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Mg}^{++}$ , alcalosi metabolica ed ipocalciuria (27). Nei pazienti con sindrome di Gitelman sono tipicamente presenti ipernatriuria ed ipocalciuria, unitamente ad un aumento della densità minerale ossea osservata a livello dei corpi vertebrali (29, 30). Tuttavia, i TZD possono provocare iponatremia e numerosi studi recenti suggeriscono che l'iponatremia si associa un aumento del rischio di fratture, influenzando direttamente sull'osso tramite l'attivazione degli osteoclasti non accompagnata da una contemporanea stimolazione dell'osteof ormazione. (31-33). Un altro aspetto importante dell'azione dei DZT è quello di ridurre l'escrezione urinaria del calcio

e di aumentare la calcemia. Quest'ultimo effetto è stato, e viene tuttora usato, per il trattamento della ipercalcemia idiopatica, in particolare della forma di ipercalcemia idiopatica renale; infatti, i DZT correggendo la perdita renale di calcio, evitano la comparsa di un iperparatiroidismo secondario con normalizzazione della sintesi di  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  e dell'assorbimento intestinale di calcio (33-35). Sin dalla introduzione dei tiazidici per il trattamento dell'ipertensione arteriosa, numerosi autori hanno osservato l'influenza positiva dei tiazidici sull'osso che potrebbe essere legata a più meccanismi patogenetici:

1. Inibizione del NCC nella porzione distale del nefrone, con conseguente riduzione della escrezione renale del calcio, aumento della calcemia e della BMD (come si osserva nei pazienti con sindrome di Gitelman o trattati con DT) (29, 35).
2. Azione diretta sulla formazione di osso indipendente dalla loro azione sul rene, come suggerito da Dvorak et al. (35); questi autori hanno osservato che gli osteoblasti, e in minor misura, gli osteociti presenti nel tessuto osseo umano e di ratto, esprimono la proteina NCC suggerendo che gli osteoblasti possano essere un ulteriore bersaglio per i tiazidici. Gli autori hanno anche osservato la presenza di NCC in alcuni osteoclasti di criopreparati di femore di ratto, ma non nel tessuto osseo umano. Questa osservazione suggerisce che i TZD possano interferire anche sulla funzione degli osteoclasti.
3. Raisz et al. (36) suggeriscono che TZD prevengono la perdita di massa ossea in quanto riducono la produzione acida mediante l'inibizione dell'attività della anidasi carbonica negli osteoclasti.
4. La duplice azione dei TZD sulla funzione sia degli osteoblasti sia degli osteoclasti potrebbe spiegare la riduzione del rimodellamento osseo osservato nei pazienti che assumono questi farmaci, in assenza di modificazioni dei livelli circolanti di PTH.

In conclusione, i risultati di Dvorak et al. (35) sottolineano il ruolo chiave della pre-

senza dei NCC negli osteoblasti nel mediare la formazione di tessuto osseo indotta dai TZD e, quindi, per la prevenzione e il trattamento dell'osteoporosi. Le prime segnalazioni degli effetti positivi indotti dai TZD sul contenuto minerale osseo (BMC), sulla densità minerale ossea (BMD) e sul rischio di frattura risalgono ai primi anni del 1980 (Tabelle II e III). Numerosi studi hanno esaminato le modificazioni del BMC e della BMD nei pazienti trattati con TZD per la presenza di ipertensione arteriosa o di ipercalcemia idiopatica. Sebbene non vi sia un accordo unanime in letteratura, la maggior parte degli autori ha osservato un aumento della BMD. Infatti, numerosi studi epidemiologici, studi osservazionali, trials randomizzati controllati hanno dimostrato un aumento della BMD nei soggetti trattati con TZD rispetto al gruppo placebo (37, 39-49). Recentemente, Solomon et al. (60) hanno valutato le modificazioni annuali della BMD in un gruppo di donne arruolate per lo studio di coorte multi-etnico longitudinale osservazionale (Study of Women Across the Nation (SWAN) che non era stato trattato in precedenza con farmaci antipertensivi e in un gruppo di controllo non trattato. Il gruppo trattato veniva suddiviso in 3 sottogruppi sottoposti rispettivamente a terapia con ACE inibitori,  $\beta$ -bloccanti e tiazidici. I pazienti trattati con ACE inibitori e  $\beta$ -bloccanti non presentavano modificazioni annuali della BMD, valutata a livello del rachide lombare e dei femori rispetto ai soggetti non trattati. Viceversa la terapia con TZD si associava ad una riduzione della massa ossea significativamente inferiore rispetto a quella dei soggetti non trattati (-0,29% vs -0,88%,  $p=0,008$ ). In conclusione anche questo studio longitudinale di coorte conferma i risultati osservati in letteratura dell'azione positiva dei diuretici tiazidici sulla BMD, che rappresentano un'ottima scelta terapeutica per abbassare la pressione arteriosa in soggetti anziani a rischio o già portatori di osteoporosi.

I dati della letteratura indicano un ruolo ancor più significativo svolto dai diuretici tiazidici nella prevenzione delle fratture (Tabella III). Infatti, numerosi studi epidemiologici e trials randomizzati hanno

mostrato che i TZD svolgono un ruolo protettivo nei confronti dell'osso, riducendo il rischio di fratture del femore nelle donne sia prima che dopo la menopausa, come pure negli uomini anziani. In uno studio prospettico di coorte che includeva 9.518 uomini e donne anziane che risiedevano in tre comunità, l'incidenza delle fratture di femore era minore nei soggetti trattati con tiazidici rispetto a quelli non

trattati. Il rischio globale relativo per la frattura di femore, aggiustata per i fattori confondenti (la comunità e l'età) era di 0,63 (95% CI 0,46-0,86) (45). Jones et al. (54) hanno esaminato 18 studi osservazionali relativi alle relazioni tra diuretici e fratture; da 13 di questi studi, che coinvolgevano 29600 soggetti, è stato possibile ricavare informazioni sull'uso dei TZD e sulla comparsa di fratture. I pazienti che

**Tabella II** - Diuretici Tiazidici e Massa Ossea (BMC/BMD).

	Anno	Studio	Soggetti (n)	Età (anni)	Therapia	Sede misura BMD/BMC	Outcome: BMD /BMC
Wasnich et al. (37)	1983	Cross-sectional	1368 maschi	68 (età media)	TZ: current users vs. non users	Distal/ proximal radius and ulna.	↑ BMC
Sowers et al. (38)	1985	Cross-sectional	435 femmine in menopausa	55 - 80	TZ: current users vs. non users	Radial BMD	↓ BMD
Wasnich et al. (39)	1986	Retrospectivo	993 femmine in menopausa	68 (età media)	TZ: current users vs. non users	Distal/ proximal radius and ulna. Os calcis	↑ BMC
Morton et al. (40)	1994	Epidemiologico	1696 maschi e femmine	44-98	TZ: current users	Ultradistal & midshaft radius, Hip, lumbar spine	↑ Women: all sites) Men: only midshaft radius
Cauley et al. (41)	1993	Cross-sectional	9704 femmine	≥ 65	Diuretic Current users > 10 yrs	Appendicular bone mass	↑ BMD
Bauer et al. (42)	1993	Cross-sectional	9704 femmine	≥ 65	TZ: current User > 5 yrs	Distal radius,	↑ BMD
Glynn et al. (43)	1995	Epidemiologico	541 maschi	≥ 50	TZ: current users vs. non users	Proximal femur	↑ BMD femoral neck: BMD Trochanter.
Orwoll et al. (44)	1996	Cross-sectional	7963 femmine	≥ 65	Diuretic current users	Femoral neck, lumbar spine	↑ BMD
*LaCroix et al. (45)	2000	Randomizzato controllato in doppio cieco, verso placebo	320 femmine e maschi	60-79	TZ: current users vs. placebo	Total hip, lumbar spine, total body	↑ BMD
Reid et al. (46)	2000	Trial randomizzato in doppio cieco	92 femmine in menopausa	63 ± 6	TZ: current users	Total body, lumbar spine, femoral neck	↑ BMD
Sigurdsson et al. (47)	2001	Gruppo basato sulla popolazione	248 femmine	70	TZ. Current users vs. controls	Lumbar spine, total body	↑ BMD (no difference at femoral neck)
Bolland et al. (48)	2007	Trial Randomizzato controllato	185 femmine in menopausa	75 (età media)	Thiazides users vs. placebo users	Lumbar spine, femur, total body	↑ BMD (only total body)
Ott et al. (49)	2008	Studio clinico randomizzato	265 femmine e maschi	60-79	TZ: current users	Hip bone density	↑ BMD

\*I risultati dei maschi non sono mostrati per lo scarso numero di sofferiti reclutati  
 BMC = Contenuto Minerale Osseo. BMD: Densità Minerale Ossea. Le modificazioni dei valori della BMD/BMC sono espressi come modificazioni percentuali o in grammi per centimetro quadrato.  
 TZ = Tiazidici; HCTZ = idroclorotiazide  
 TZ Current users: soggetti che assumono regolarmente tiazidici. Subjects non users: patients trattati in precedenza con TZ.  
 Controlli: soggetti non in terapia: Placebo users: pazienti arruolati per i trials.

Tabella III - Tiazidici e rischi di fratture.

Autori	Anno	Studio	Soggetti (n)	Età (anni)	Terapia	Outcomes: Fratture
Lacroi et al. (50)	1990	Studio prospettico di coorte	9518 maschi e femmine	74 (età media)	Uso di tiazidici	↓ Fratture di femore
Felson et al. (51)	1991	Studio caso-controllo	176	77 (età media)	TZD current users	↓ Fratture di femore
Heidric et al.* (52)	1991	Studio caso-controllo	462	NA	TZD current users	↑ Fratture di femore
Cumming and Klineberg (55)	1993	Studio caso-controllo di coorte	209	≥ 65	TZD current users	= Fratture di femore
Cauley et al. (53)	1993	Analisi cross-sectional	9704 femmine	≥ 65	TZD current users	Tendenza ad una riduzione delle fratture di femore e polso
Jones et al. (54)	1995	Meta-analisi	29600 femmine/ maschi di diverse popolazioni	50 - 80	TZD current users	↓ Fratture di femore
Feskanic et al. (56)	1997	Studio caso- controllo di coorte	83728	≈50	TZD current users versus non-users	↓ Fratture di femore (postmenopausal only)
Schoofs et al. (57)	2003	Studio di coorte prospettico	7891	≥ 55	TZD current users	↓ Fratture di femore
Schlienger et al. (58)	2004	Analisi caso-controllo	30601 maschi/ femmine	30-79	TZD current users	↓ Tutte le fratture
Rejnmark et al. (59)	2005	Studio caso-controllo	64699	66 (età media)	TZD Current users versus non-users	↓ Fratture di femore e avambraccio
Solomon et al. (60)	2011	Studio di coorte	2312 femmine	4252	TZD Current users versus non-users	↓ Fratture di femore

\*The relative risk for hip fracture associated with diuretic use was calculated and adjusted for the potentially confounding effects of nursing home residence; previous hospitalizations; a history of stroke, alcoholism, or the organic brain syndrome; body weight; leg paralysis; and use of phenobarbital, corticosteroids, or other diuretics.

usavano correntemente i tiazidici sembravano protetti nei confronti delle fratture di femore (OR 0,82; 95% CI 0,73-0,91). I risultati di questa meta-analisi indicavano che i soggetti che assumevano regolarmente i tiazidici avevano una riduzione del 20% del rischio di frattura (Fig. 1). Successivamente, uno studio della durata di 10 anni che coinvolgeva 83.728 donne (56) e due studi caso-controllo che coinvolgevano 30.601 pazienti nella Gran Bretagna (OR 0,80; 95% CI, 0,74-0,86) (58) e 64.699 nella Danimarca (59) mostravano una significativa riduzione del rischio di tutte le fratture. Inoltre, una sub-analisi dimostrava una riduzione del rischio della frattura di femore del 19% (OR 0,82; 95% CI 0,62-1,08). In una meta-analisi che includeva 19 studi osserva-

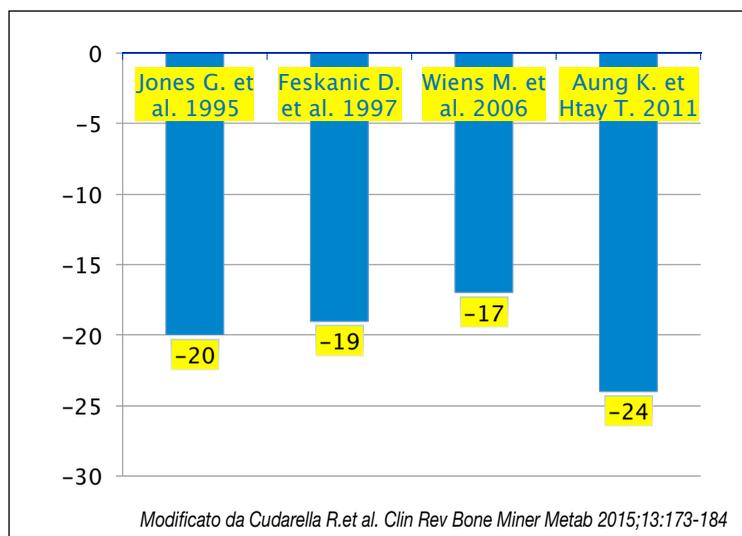


Figura 1 - Decreased risk of hip fractures in patients treated with Thiazides - Results by author (%)

zionali, Wiens et al. (61) hanno osservato che l'uso dei tiazidici si associava a circa il 17% di riduzione del rischio di frattura di femore (Fig. 1). In una recente review, Aung and Htay (62) hanno ipotizzato che i tiazidici possano prevenire le fratture di femore, anche se la terapia diuretica aumenta il rischio di caduta nell'anziano.

Gli autori (62), dopo un'attenta disamina della letteratura, concludevano che in nessun studio la riduzione della incidenza della frattura di femore era stata scelta come end point primario, in quanto i tiazidici erano stati usati soprattutto come farmaci antipertensivi e non come farmaci per la prevenzione delle fratture. La loro review includeva 21 studi osservazionali che indicavano che nei pazienti trattati regolarmente con TZD era presente una riduzione significativa di circa il 24% del rischio di frattura del femore (Fig. 1). Questi risultati sono in accordo con quelli di Jones et al. (54) e di Wiens (61) che riportavano una riduzione del rischio di frattura di femore rispettivamente del 18% e del 17% (Fig. 1). In conclusione, i dati della letteratura sono d'accordo, con poche eccezioni, (Tabella III) nell'indicare un effetto protettivo dei tiazidici sul rischio di fratture, e questo effetto sembra correlato alla dose del farmaco e alla maggior durata del trattamento. In un lavoro pubblicato di recente, Paik et al. (63) hanno focalizzato la loro attenzione sul possibile rapporto tra uso di diuretici e fratture vertebrali. Infatti i diuretici tiazidici, che vengono comunemente prescritti per il trattamento dell'ipertensione arteriosa, riducono la calciuria, ma possono anche provocare iponatremia, che è stata associata a un aumento del rischio per le fratture vertebrali. Anche gli studi più recenti sui diuretici e le fratture non includono, o esaminano specificatamente, il problema delle fratture vertebrali. Mentre numerosi studi hanno dimostrato l'azione protettiva dei tiazidici sulle fratture di femore, nei due studi nei quali veniva esaminato il rapporto tra uso dei tiazidici e fratture vertebrali non è stato possibile stabilire un'associazione statisticamente significativa (59, 61).

Gli autori hanno condotto uno studio prospettico di coorte sulla possibile correlazione tra uso dei diuretici, sia tiazidici che dell'ansa, e il rischio di fratture vertebrali cliniche incidenti in gruppo di 55.780 donne, di età compresa tra 55-82 anni, che partecipavano al Nurse's Health Study. Nessuna donna aveva una storia di fratture precedenti. Durante il periodo di follow-up di 10 anni sono stati confermati 420 casi di fratture vertebrali incidenti. L'uso dei tiazidici era associato ad un aumento del rischio clinico di fratture vertebrali dopo aggiustamento per l'età (RR 1,44, 95% CI 1,16 to 1,80).

Anche le donne che assumevano diuretici dell'ansa dopo aggiustamento per l'età presentavano un aumento del rischio di fratture vertebrali (RR 1,63, 95% CI 1,16 to 2,28). In questo ampio studio prospettico gli autori hanno osservato un aumento indipendente del rischio di fratture vertebrali cliniche incidenti; lo studio si differenzia dagli altri reports per l'accuratezza diagnostica delle fratture vertebrali confermate sia da referti clinici sia dal ripetuto controllo dell'aderenza alla terapia con i diuretici. In questo studio prospettico per la prima volta viene segnalato un aumento del rischio di fratture vertebrali cliniche in donne trattate con tiazidici; questo aumento del rischio potrebbe essere mediato dall'iponatremia che può essere provocata dai TZD, e che ha un effetto diretto sull'osso mediante l'attivazione degli osteoclasti non accompagnata da una contemporanea stimolazione dell'osteof ormazione.

Viene così compromesso il meccanismo di riparazione delle microlesioni, con deterioramento della qualità dell'osso e aumento del rischio di frattura (64).

L'associazione tra uso dei TZD e l'iponatremia è stata ben stabilita, e si calcola che 3 pazienti su 10 trattati con TZD possano sviluppare una iponatremia. Il dato di una associazione positiva tra uso di TZD e fratture vertebrali si accorda con i risultati di altri due recenti studi che hanno indicato che anche una iponatremia di grado medio aumenta il rischio di sviluppare fratture vertebrali e non vertebrali,

indipendentemente dalla presenza di cadute (30-32) e dal valore della BMD. Anche se i risultati di Paik et al. (63) sono in linea con quanto atteso dai dati della letteratura, cioè di una associazione tra uso di LD e fratture vertebrali (64, 65), questo è il primo studio prospettico di un aumentato rischio di fratture vertebrali cliniche associato alla terapia con diuretici dell'ansa nelle donne. I meccanismi con i quali i LD aumentano il rischio di fratture vertebrali sono diversi da quelli dei TZD e includono l'effetto calciuretico dei LD con successivo aumento della concentrazione plasmatica del PTH e riduzione del contenuto minerale osseo (65-66). In questo ampio studio prospettico di coorte, i diuretici tiazidici e dell'ansa erano indipendentemente associati con un aumentato rischio di fratture cliniche vertebrali nelle donne in menopausa che partecipavano al Nurse' Health Study.

## ■ CONCLUSIONI

In conclusione, i dati della letteratura suggeriscono un effetto positivo della terapia con TZD sull'osso mediante sia un aumento della BMD sia una riduzione del rischio di frattura. Inoltre, l'effetto protettivo dei TZD sembra essere legato alla durata del trattamento, come descritto da Ray et al. (68). Un'analoga conclusione veniva raggiunta anche da LaCroix et al. che hanno descritto un'associazione protettiva tra uso dei TZD e rischio di frattura di femore negli anziani di entrambi i sessi (50).

Inoltre, l'azione protettiva dei TZD non sembra persistere a lungo dopo la sospensione del trattamento con tiazidici (69). È stata descritta anche una relazione tra dose ed effetto dei TZD, che sembrano avere un effetto maggiore nelle femmine rispetto ai maschi (70). L'impiego di questi farmaci sembra particolarmente appropriato nelle donne in menopausa con ipertensione arteriosa. Tuttavia, gli eventi avversi dei TZD possono ridurre gli effetti positivi che esercitano sull'osso. Alcuni aspetti devono esser particolarmente ricordati: il primo è l'aumento del rischio

**Tabella IV** - Effetti avversi dei Diuretici Tiazidici.

- Ipotensione ortostatica
- Ipopotassiemia
- Ipomagnesemia
- Iponatremia
- Iperuricemia
- Iperglicemia
- Ipercolesterolemia e ipertrigliceridemia
- Ipercalcemia
- Ipocitraturia
- Impotenza
- Disfunzione erettile

di cadute; il secondo è correlato alle modificazioni di alcuni parametri biochimici che sono indicati nella tabella IV quali l'ipopotassiemia, ridotta tolleranza al glucosio, dislipidemia e iperuricemia, che aumentano il rischio di malattie cardiovascolari. L'ipocitraturia è correlata all'ipopotassiemia che promuove il riassorbimento prossimale del citrato.

Più recentemente, il citrato è stato implicato nella patogenesi e trattamento delle malattie metaboliche dell'osso e la valutazione della escrezione urinaria del citrato è stata proposta come predittore della perdita di massa ossea e del rischio di fratture. (71, 72). Inoltre, nel 2005, veniva descritta per la prima volta un'associazione tra ipocitraturia e fratture vertebrali da fragilità (73). Tutti questi dati suggeriscono che i pazienti trattati con TZD dovrebbero assumere, contemporaneamente ai TZD, supplementi di citrato di potassio e magnesio, che prevengono la perdita di massa ossea mediante diversi meccanismi (74). Infine, deve essere sottolineata l'importanza del ruolo dell'iponatremia sull'aumento del rischio di fratture, come sopra descritto.

In conclusione sembra che i TZD possano svolgere un ruolo interessante nel trattamento dell'osteoporosi, particolarmente nei soggetti affetti sia da osteoporosi sia da ipertensione arteriosa; tuttavia la loro efficacia nel ridurre il rischio di fratture e il possibile effetto negativo svolto dagli eventi avversi di questo trattamento devono essere ulteriormente e accuratamente

valutati mediante trials clinici randomizzati controllati che abbiano come end point principale la riduzione delle fratture. Una attenzione particolare in questi studi deve essere riservata alla valutazione delle fratture vertebrali, che risultano aumentate non solo nei pazienti che assu-

mono TZD ma anche in quelli trattati con LD, l'uso dei quali è molto più frequentemente riservato a pazienti in condizioni di salute compromesse, già a rischio di cadute, fratture e perdita di massa ossea, sia per la patologia di base sia per altre condizioni di comorbidità associate.

### RIASSUNTO

Tra le cause di osteoporosi secondaria, quelle da farmaci sono spesso neglette; tra di essi vi sono i diuretici e, in particolar modo, i diuretici dell'ansa e i tiazidici. I diuretici dell'ansa, studiati in pochi lavori, aumentano l'escrezione urinaria di calcio con possibile riduzione della densità minerale ossea, noto fattore di rischio per fratture; quale meccanismo di azione dei diuretici dell'ansa si riconosce l'effetto calciuretico, con conseguente aumento del livello plasmatico del PTH e iperattività riassorbitiva ossea. I diuretici tiazidici, comunemente utilizzati per il trattamento dell'iperparatiroidismo idiopatico, riducono invece l'escrezione urinaria di calcio, dimostrandosi capaci di ridurre il rischio fratturativo, in particolare di femore. La letteratura sui tiazidici e l'osso è più cospicua, evidenziando per essi non solo un effetto indiretto per l'azione renale, ma anche un effetto diretto sulla formazione ossea osteoblasto-mediata (via inibizione della proteina NCC responsabile del co-trasporto Na-Cl) e sul riassorbimento osteoclasto-mediato (via inibizione dell'anidrasi carbonica). L'inibizione del NCC provoca, tuttavia, anche un aumento dell'escrezione renale del sodio inducendo potenzialmente una iponatremia, la quale di recente è stata associata ad un aumento del rischio di cadute e di fratture, in particolare di vertebra, anche se quest'ultimo aspetto è ancora vexata quaestio.

### ■ BIBLIOGRAFIA

1. Nishio K, Mukae S, Aoki S, Itoh S, Konno N, Ozawa K, Satoh R, Katagiri T. Congestive heart failure is associated with the rate of bone loss. *J. Intern. Med.* 2003; 25: 439-446.
2. Choi SH, An JH, Lim S, Koo BK, Park SE, Chang HJ, Choi SI, Park YJ, Park KS, Jang HC, Shin CS. Lower bone mineral density is associated with higher coronary calcification and coronary plaque burdens by multidetector row coronary computed tomography in pre- and postmenopausal women. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. 2009; 71: 644-651.
3. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*. 2003; 42: 1206-1252.
4. Yang S, Nguyen ND, Center JR, Eisman JA, Nguyen TV. Association between hypertension and fragility fracture: a longitudinal study. *Osteoporos Int.* 2014; 25: 97-103.
5. Cappuccio FP, Meilahn E, Zmuda JM, Cawley JA. High blood pressure and bone-mineral loss in elderly white women: a prospective study. *Study of Osteoporotic Fractures Research Group. Lancet*. 1999; 354: 971-975.
6. Majumdar SR, Ezekowitz JA, Lix LM, Leslie WD. Heart failure is a clinically and densitometrically independent risk factor for osteoporotic fractures: population-based cohort study of 45,509 subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012; 97: 1179-1186.
7. Rejnmark L, Vestergaard P, Heickendorff L, Andreassen F, Mosekilde L. Effects of thiazide- and loop-diuretics, alone or in combination, on calcitropic hormones and biochemical bone markers: a randomized controlled study. *J. Intern. Med.* 2001; 250: 144-153.
8. Fujita T, Chan JCM, Bartter FC. Effects of oral furosemide and salt loading on parathyroid function in normal subjects. *Nephron*. 1984; 38: 109-114.
9. Reichel H, Deibert B, Geberth S, Schmidt GH, Ritz E. Furosemide therapy and intact parathyroid hormone plasma concentrations in chronic renal insufficiency. *Nephrol Dial Transplant*. 1992; 7: 8-15.
10. Coe FL, Canterbury JM, Firpo JJ, Reiss E. Evidence for secondary hyperparathyroidism in idiopathic hypercalciuria. *J Clin Invest*. 1973; 52: 134-142.
11. Wang X, et al. Amiloride inhibits osteoclastogenesis by suppressing nuclear factor-κB and mitogen-activated protein kinase activity in receptor activator of nuclear factor-κB-induced RAW264.7 cells. *Molecular medicine reports*. 2015; 11: 3451-3456.
12. Murray MD, Haag KM, Black PK, Hall SD,

- et al. Variable furosemide absorption and poor predictability of response in elderly patients. *Pharmacotherapy*. 1997; 17: 98-106.
13. Vargo DL, Kramer WG, Black PK, Serpas T, et al. Bioavailability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of torsemide and furosemide in patients with congestive heart failure. *Clin Pharmacol Ther*. 1995; 57: 601-609.
  14. Fuss M, Pepersack T, Bergman P, Hurard T, et al. Low calcium diet in idiopathic urolithiasis: a risk factor for osteopenia as great as in primary hyperparathyroidism. *Br J Urol*. 1990; 65: 560-563.
  15. Weisinger JR. Bone loss in hypercalciuria: cause or consequence? *Am J Kidney Dis*. 1999; 33: xlvii-xlviii.
  16. Grieffe M, Bushinsky DA. Diuretics and disorders of calcium metabolism. *Semin Nephrol*. 2011; 31: 535-541.
  17. Ooms ME, Lips P, Van Lingen A, Valkenburg HA. Determinants of bone mineral density and risk factors for osteoporosis in healthy elderly women. *J Bone Miner Res*. 1993; 8: 669-675.
  18. Heidrich FE, Stergachis A, Gross KM. Diuretic drug use and the risk for hip fracture. *Ann Intern Med*. 1991; 115: 1-6.
  19. Rashedi S, Logan RFA. Role of drugs in fractures of the femoral neck. *BMJ* 1986; 292: 861-863.
  20. Cumming RG, Klineberg RJ. Psychotropics, thiazide diuretics and hip fractures in the elderly. *Med J Aust*. 1993; 158: 414-417.
  21. Carbone LD, Johnson KC, Bush AJ, Robbins J, et al. Loop diuretic use and Fracture in Postmenopausal Women. Findings from the Women's Initiative Robbins L. *Arch Intern Med*. 2009; 169: 132-140.
  22. Rejnmark L, Vestergaard P, Heickendorff L, Andreasen F, Mosekilde L. Effects of long-term treatment with loop diuretics on bone mineral density, calcitropic hormones and bone turnover. *J Intern Med*. 2005; 257: 176-184.
  23. Rejnmark L, Vestergaard P, Heickendorff L, Andreasen F, Mosekilde L. Loop diuretics increase bone turnover and decrease BMD in osteopenic postmenopausal: results from a randomized controlled study with bumetanide. *J Bone Miner Res*. 2006; 21: 163-170.
  24. Ruiter R, Oei L, Visser LE, Peltenburg HG, et al. The effect of thiazide and loop diuretics on urinary levels of free deoxyypyridinoline: an osteoclastic bone-resorption marker. *J Clin Pharm Ther*. 2013 Jun; 38: 225-229.
  25. Grieffe M, Bushinsky DA. Diuretics and disorders of calcium metabolism. *Semin Nephrol*. 2011; 31: 535-541.
  26. Ackerman DM, Hook JB. Historical background, chemistry, and classification. In: Eknoyan G, Martinez-Maldonado M, editors. *The physiological basis of diuretic therapy in clinical medicine*. Orlando: Grune & Stratton Inc. 1986; 1-25.
  27. Mount DB, Delpire E, Gamba G, Hall AE, Poch E, Hoover RS, Hebert SC. The electro-neutral cation-chloride cotransporters. *J Exp Biol*. 1998; 201: 2091-2102.
  28. Middler S, Pak CY, Murad F, Bartter FC. Thiazide diuretics and calcium metabolism. *Metabolism*. 1973; 22: 139-146.
  29. Nicolette Barousse L, Blanchard A, Roux C, Pietri L, et al. Inactivation of the Na-Cl Co-Transporter (NCC) Gene Is Associated With High BMD Through Both Renal And Bone Mechanisms: Analysis of Patients With Gitelman Syndrome and NccNull Mice. *J Bone Miner Res*. 2005; 20: 799-808.
  30. Hoorn EJ, Rivadeneira F, van Meurs JB, et al. Mild hyponatremia as a risk factor for fractures: the Rotterdam Study. *J Bone Miner Res*. 2011; 26: 1822-1828.
  31. Jamal SA, Arampatzis S, Harrison SL, et al. Hyponatremia and Fractures: Findings From the MrOS Study. *J Bone Miner Res*. 2015; 30: 970-975.
  32. Usala RL, Fernandez SJ, Mete M, et al. Hyponatremia Is Associated With Increased Osteoporosis and Bone Fractures in a Large US Health System Population. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015; 100: 3021-3031.
  33. Pak CYC. Physiological basis for absorptive and renal hyper-calciurias. *Am J Physiol*. 1979; 237: F415-423.
  34. Bazzini C, Vezzoli V, Sironi C, Dossena S, Ravasio A, De Biasi S, Garavaglia M, Rodighiero S, Meyer G, Fascio U, Furst J, Ritter M, Bottà G, Paulmichl M. Thiazide-sensitive NaCl-cotransporter in the intestine. Possible role of hydrochlorothiazide in the intestinal Ca<sup>2+</sup> uptake. *J Biol Chem*. 2005; 280: 19902-19910.
  35. Dvorak MM, De Joussineau C, Carter DH, Pisitkun T, Knepper MA, Gamba G, Kemp PJ, Riccardi D. Thiazide diuretics directly induce osteoblast differentiation and mineralized nodule formation by interacting with a sodium chloride co-transporter in bone. *J Am Soc Nephrol*. 2007; 18: 2509-2516.
  36. Raisz LG, Simmons HA, Thompson WJ, Shepard KL, Anderson PS, Rodan GA. Effects of a potent carbonic anhydrase inhibitor on bone resorption in organ culture. *Endocrinology*. 1993; 122: 1083-1086.
  37. Wasnich RD, Benfante RJ, Yano K, Heilbrun L, Vogel JM. Thiazide effect on the mineral content of bone. *N Engl J Med*. 1983; 309: 344-347.
  38. Sowers MR, Wallace RB, Lemke JH. Correlates of mid-radius bone density among postmenopausal women: a community study. *Am J Clin Nutr*. 1985; 41: 1045-1053.
  39. Wasnich RD, Ross PD, Heilbrun LK, Vogel

- JM, Yano K, Ben-fante RJ. Differential effects of thiazide and estrogen upon bone mineral content and fracture prevalence. *Obstet Gynecol.* 1986; 67: 457-462.
40. Morton DJ, Barrett-Connor EL, Edelstein SL. Thiazides and bone mineral density in elderly men and women. *Am J Epidemiol.* 1994; 139: 1107-1115.
  41. Cauley JA, Cummings SR, Seeley DG, Black D, Browner W, Kuller LH, Nevitt MC. Effects of thiazide diuretic therapy on bone mass, fractures, and falls. The study of osteoporotic fractures research group. *Ann Intern Med.* 1993; 118: 666-673.
  42. Bauer DC, Browner WS, Cauley JA, Orwoll ES, Scott JC, Black DM, et al. Factors associated with appendicular bone mass in older women. The study of osteoporotic fractures research group. *Ann Intern Med.* 1993; 118: 657-675.
  43. Glynn NW, Meilahn EN, Charron M, Anderson SJ, Kuller LH, Cauley JA. Determinants of bone mineral density in older men. *J Bone Miner Res.* 1995; 10: 1769-1777.
  44. Orwoll ES, Bauer DC, Vogt TM, Fox KM. Axial bone mass in older women. Study of osteoporotic fractures research group. *Ann Intern Med.* 1996; 124: 187-1896.
  45. LaCroix AZ, Ott SM, Ichikawa L, Scholes D, Barlow WE. Low dose hydrochlorothiazide and preservation of bone mineral density in older adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med.* 2000; 133: 516-526.
  46. Reid IR, Ames RW, Orr-Walker BJ, Clearwater JM, Horne AM, Evans MC, et al. Hydrochlorothiazide reduces loss of cortical bone in normal postmenopausal women: a randomized controlled trial. *Am J Med.* 2000; 109: 362-370.
  47. Sigurdsson G, Franzson L. Increased bone mineral density in a population-based group of 70-year-old women on thiazide diuretics, independent of parathyroid hormone levels. *J Intern Med.* 2001; 250: 51-56.
  48. Bolland MJ, Ames RW, Horne AM, Orr-Walker BJ, Gamble GD, Reid IR. The effect of treatment with a thiazide diuretic for 4 years on bone density in normal postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 2007; 18: 479-486.
  49. Ott SM, LaCroix AZ, Scholes D, Ichikawa LE. Effects of three years of low-dose thiazides on mineral metabolism in healthy elderly persons. *Osteoporos Int.* 2008; 19: 1315-1322.
  50. LaCroix AZ, Wienpahl J, White LR, Wallace RB, Scherr PA, George LK, Cornoni-Huntley J, Ostfeld AM. Thiazide diuretic agents and the incidence of hip fracture. *N Engl J Med.* 1990; 322: 286-290.
  51. Felson DT, Sloutskis D, Anderson JJ, Anthony JM, Kiel DP. Thiazide diuretics and the risk of hip fracture. Results from the framingham study. *JAMA.* 1991; 265: 370-373.
  52. Heidrich FE, Stergachis A, Gross KM. Diuretic drug use and the risk for hip fracture. *Ann Intern Med.* 1991; 115: 1-6.
  53. Cauley JA, Cummings SR, Seeley DG, Black D, Browner W, Kuller LH, Nevitt MC. Effects of thiazide diuretic therapy on bone mass, fractures, and falls. The study of osteoporotic fractures research group. *Ann Intern Med.* 1993; 118: 666-673.
  54. Jones G, Nguyen T, Sambrook PN, Eisman JA. Thiazide diuretics and fractures: can meta-analysis help? *J Bone Miner Res J Bone Miner Res.* 1995; 10: 106-111.
  55. Cumming RG, Klineberg RJ. Psychotropics, thiazide diuretics and hip fractures in the elderly. *Med J Aust.* 1993; 158: 414-417.
  56. Feskanich D, Willett WC, Stampfer MJ, et al. A prospective study of thiazide use and fractures in women. *Osteoporos Int.* 1997; 7: 79-84.
  57. Schoofs MWCJ, van der Klift M, Hofman A, et al. Thiazide diuretics and the risk for hip fracture. *Ann Intern Med.* 2003; 139: 476-482.
  58. Schlienger RG, Kraenzlin ME, Jick SS, Meier CR. Use of b-blockers and risk of fractures. *JAMA.* 2004; 292: 1326-1332.
  59. Rejnmark L, Vestergaard P, Mosekilde L. Reduced fracture risk in users of thiazide diuretics. *Calcif Tissue Int.* 2005; 76: 167-175.
  60. Solomon DH, Mogun H, Garneau K, Fisher MA. Risk of fractures in older Adults Using Antihypertensive Medications. *J Bone Miner Res.* 2011; 26: 1561-1567.
  61. Wiens M, Etminan M, Gill SS, Takkouche B. Effects of antihypertensive drug treatments on fracture outcomes: a meta-analysis of observational studies. *J Intern Med.* 2006; 260: 350-362.
  62. Aung K, Htay T. Thiazide diuretics and the risk of hip fracture. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011.
  63. Paik JM, Rosen HN, Gordon CM, Curhan GC. Diuretic use and risk of vertebral fracture in women. *The American Journal of Medicine.* 2016.
  64. Seeman E, Delmas PD. Bone quality—the material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med.* 2006; 354: 2250-2261.
  65. Friedman PA, Bushinsky DA. Diuretic effects on calcium metabolism. *Semin Nephrol.* 1999; 19: 551-556.
  66. Rejnmark L, Vestergaard P, Heickendorff L, Andreasen F, Mosekilde L. Loop diuretics increase bone turnover and decrease BMD in osteopenic postmenopausal women: results from a randomized controlled study with bu-

- metanide. *J Bone Miner Res.* 2006; 21: 163-170.
67. Ooms ME, Lips P, Van Lingen A, Valkenburg HA. Determinants of bone mineral density and risk factors for osteoporosis in healthy elderly women. *J Bone Miner Res.* 1993; 8: 669-675.
68. Ray WA, Griffin MR, Downey W, Melton LJ 3rd. Longterm use of thiazide diuretics and risk of hip fracture. *Lancet.* 1989; 1: 687-690.
69. Transbol I, Christensen MS, Jensen GF, et al. Thiazide for the postponement of postmenopausal bone loss. *Metabolism.* 1982; 31: 383-386.
70. Caudarella R, Vescini F, Rizzoli E, Olivieri FM. The Effect of Thiazides on Bone Markers, Bone Mineral Density and Fractures. *Clinic Rev Bone Miner Metab.* 2015; 13: 173-184.
71. Caudarella R, Vescini F, Buffa A, et al. Citrate and mineral metabolism: kidney stones and bone disease. *Front Biosci.* 2003; 8: s1084-106.
72. Jehle S, Zanetti A, Muser J, Hulter HN, Krapf R. Partial neutralization of the acidogenic Western diet with potassium citrate increases bone mass in postmenopausal women with osteopenia. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17: 3213-3222.
73. Vescini F, Buffa A, La Manna G, Ciavatti A, Rizzoli E, Bottura A, Stefoni S, Caudarella R. Long-term potassium citrate therapy and bone mineral density in idiopathic calcium stone formers. *J Endocrinol Invest.* 2005; 28: 218-222.
74. Caudarella R, Vescini F. Urinary citrate and renal stone disease: the preventive role of alkali citrate treatment. *Arch Ital Urol Androl.* 2009; 81: 182-187.

# Blocco ormonale nel carcinoma mammario e prostatico

## *Oestrogen and androgen deprivation therapy: an update on effects on bone and clinical indications*

F. Bertoldo<sup>1</sup>, A. Nardi<sup>2</sup>, L. Ventura<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Responsabile struttura funzionale Malattie del Metabolismo Scheletrico e Minerale/Dipartimento di Scienze Biomediche e Chirurgiche Università di Verona;

<sup>2</sup>Già responsabile UOS dipartimentale di Patologia Osteo-Articolare, ULSS 18 Rovigo;

<sup>3</sup>Già responsabile UOS dipartimentale di Reumatologia e Malattie Metaboliche dell'Osso, Az. Ospedaliera Carlo Poma, Mantova

### SUMMARY

The hormone blocking in breast and prostate cancer treatment at an early stage results in adverse effects on bone health. This is characterized by acceleration of turnover, osteoporosis and significant increase in the fracture risk due to the marked hypoestrogenism induced tissue. This clinical entity is defined with an acronym CTIBL (cancer therapy induced bone loss). The level of increase of bone turnover, which appears as soon as the established hormonal block, varies between the different types of patients (males, women in pre- and postmenopausal). All that is in relation to different types of hormonal block (menopause, chemotherapy-induced by GnRH ± Tamoxifen and aromatase inhibitors, by androgen blockade). In these subjects, unlike postmenopausal osteoporosis, a "threshold densitometric" of fracture is not definable because the fracture risk is to be considered a continuum. Nowadays, a prevention strategy on bone complications in these patients is standard practice. There is strong evidence that patients in hormone blocking have a high prevalence of osteoporosis and fractures and other risk factors for fracture. It is also clear that the most recommended and effective therapy for the prevention of CTIBL is with bone antiresorptive (bisphosphonates, Denosumab) associated with calcium vitamin D supplementation. Therapy should be started as soon as the hormone blocking is induced. Furthermore there is evidence that, in these patients, the risk of fracture remains high even after discontinuation of hormone therapy. Due to that it is necessary to assess their risk profile, the presence of possible vertebral fractures (morphometric and not) in order to decide a possible continuation of drug therapy. Alendronate and risidronate used for CTIBL therapy at the same dosage used for fracture risk reduction in postmenopausal osteoporosis, zoledronic acid dose is double. All bisphosphonates have shown effects on BMD, but there are no reliable data on fracture risk reduction. As for the denosumab, both in men and women, at a dose of 60 mg every 6 months, we have evidence of effectiveness on preventing fractures. Denosumab effect is rapid, independently of BMD and duration of hormone therapy. The new note 79 incorporated those concepts and, therefore, provides for the reimbursement for primary prevention for women and men above 50 for the entire duration of adjuvant hormonal therapy for alendronate (70mg/wk), risidronate (35mg/wk), zoledronic acid (5mg/year), Denosumab (60mg/6months with annual AIFA treatment planning).

Reumatismo, 2016; 68 (S3): 52-59

### ■ INTRODUZIONE

Alcuni trattamenti farmacologici per il cancro sono dotati di effetti negativi sulla salute dell'osso (*alterazioni della densità minerale e del turn-over osseo*). Essi causano perdita di massa ossea, quindi osteoporosi, esponendo i pazienti ad aumentato rischio di frattura. Questa entità clinica, conseguenza indiretta dei tratta-

menti farmacologici usati per alcuni tipi di carcinomi (*mammella e prostata*), viene definita dagli anglosassoni CTIBL (Cancer Therapy Induced Bone Loss). La percezione del problema da parte degli operatori sanitari è insufficiente e ciò espone i pazienti, se non sottoposti a trattamento farmacologico specifico, ad una serie di complicazioni, ad una minore sopravvivenza, ad una più veloce progressione del-

Indirizzo per la corrispondenza:  
L. Ventura  
E-mail: lorenzoventura@virgilio.it

la malattia neoplastica, ad una diminuzione della qualità di vita e ad un aumento dei costi diretti ed indiretti. Il marcato ed evidente ipoestrogenismo tissutale provocato dalla terapia ormonale adiuvante (*inibitori dell'aromatasi o tamoxifene + analoghi LHRH nelle donne con K mammario, deprivazione androgenica da agonisti del GnRH e/o antiandrogeni negli uomini con K prostatico sia operati che sottoposti a castrazione chimica*) induce un'importante accelerazione della perdita della massa ossea (Fig. 1) con osteoporosi, incrementando considerevolmente il rischio di frattura (Fig. 2 e 3) che, va precisato, risulta essere sostanzialmente indipendente dai valori di BMD (1-5). Va segnalato che nelle donne e negli uomini di età inferiore ai 50 anni, nella valutazione della massa ossea con BMD, va considerato lo Z-score e non il T-score. Se lo Z-score risulta di -2 SD o inferiore la BMD viene definita "sotto il range atteso per l'età", se, invece, lo Z-score risulta superiore a -2 SD la BMD è definita "entro il range atteso per l'età" (11).

Questo effetto è precoce e rapido, manifestandosi fin dal primo anno del trattamento ormonale adiuvante ed è paragonabile, per quando riguarda la velocità di perdita di massa ossea, alla osteoporosi cortisonica. Va inoltre considerato che molti di questi pazienti hanno una età superiore ai 65 anni e quindi, di per sé, sono a rischio di osteoporosi e di frattura. Pertanto, in questa tipologia di pazienti appare prioritario preservare anche la salute dell'osso.

Sono disponibili due categorie di farmaci: i bifosfonati (*Bps*), ed il denosumab (*Dnb*) entrambi si sono dimostrati essere efficaci nel ridurre la perdita di massa ossea indotta dalla terapia ormonale adiuvante.

Fra i Bps l'acido zoledronico è il farmaco che più ha fornito maggiore evidenza nel prevenire la perdita di massa ossea, sia nelle pazienti con K mammario in menopausa precoce, sia in donne in menopausa in terapia con AI sia negli uomini con K prostatico in ADT. È stato dimostrato come il Dnb è in grado di aumentare la BMD e di ridurre il rischio di Fx negli uomini in trattamento con ADT per K prostatico così come nelle donne in menopausa, con K della mammella.

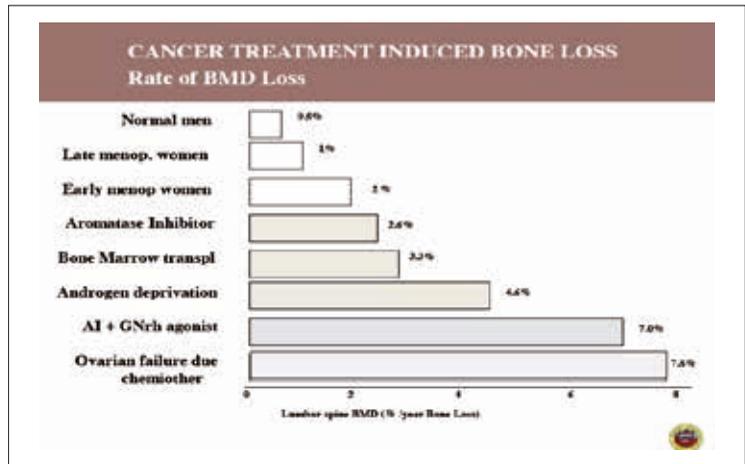


Figura 1

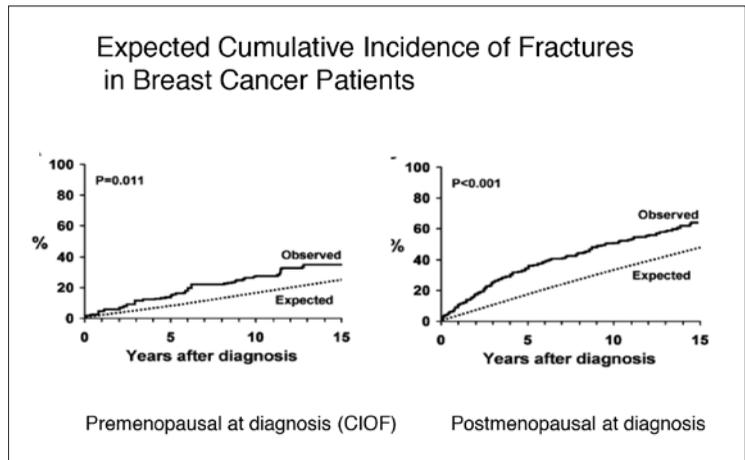


Figura 2

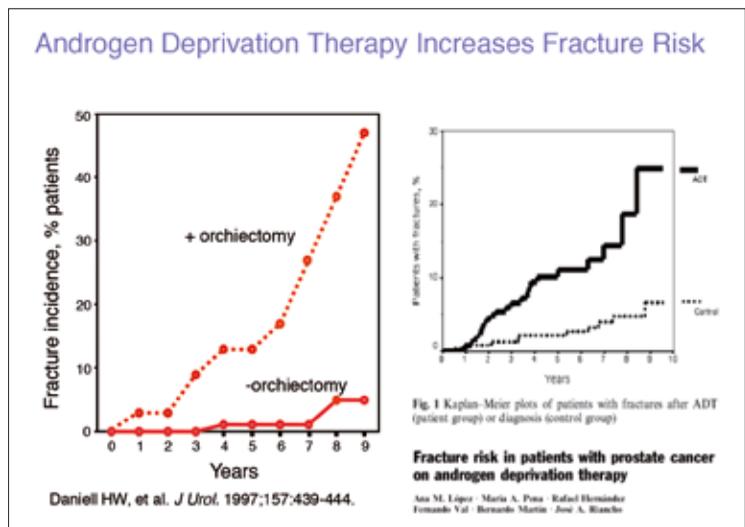


Figura 3

Inoltre sia i Bps che il Dnb sono in grado di aumentare la sopravvivenza dei pazienti, di ridurre l'insorgenza di metastasi in presenza di bassi livelli sierici di estrogeni, nonché di migliorare la qualità di vita. In questa trattazione non analizzeremo gli effetti della terapia citotossica sul metabolismo osseo.

### ■ CHI È A RISCHIO DI CTIBL

Nei pazienti con CTIBL, a differenza della Op postmenopausale, la soglia di rischio fratturativo, e conseguentemente la soglia di intervento, non può essere valutata con la BMD. In questi soggetti la BMD può risultare spesso normale od indicare osteopenia, anche in presenza di fx vertebrali morfometriche (6). Per tale motivo, sulla base di "consensus o expert opinion", sono stati suggeriti livelli sempre più conservativi della BMD (*T-score compreso fra -1 e -2*). In realtà, nella CITBL una "soglia" densitometrica di frattura non è definibile poiché, in questa categoria di pazienti, il rischio fratturativo è da considerarsi un continuum.

Questo concetto è stato recepito dal SSN Italiano e considerato nella stesura della recente revisione della nota 79 (*criteri di rimborsabilità dei farmaci antifratturativi*). In tale nota, analogamente alla osteoporosi cortisonica, non viene definita una soglia densitometrica per la terapia (*rimborsabilità in prevenzione primaria*).

In sintesi la terapia ormonale adiuvante ha di per sé un rischio di Fx significativo

(11); il che giustifica l'introduzione di una terapia anti-risorbitiva da intraprendersi contemporaneamente alla terapia ormonale adiuvante.

Il livello di incremento del turn-over osseo varia in funzione della tipologia di pazienti (*uomini, donne in pre e postmenopausa*). Tale livello è in relazione ai diversi tipi di blocco ormonale (*menopausa indotta da chemioterapia, da GnRH ± Tamoxifene e da inibitori dell'aromatasi, da blocco androgenico*) (Fig. 4).

In questa popolazione di pazienti la categoria più a rischio di osteoporosi e di Fx è rappresentata dalle donne in premenopausa, in menopausa indotta da chemioterapici, o trattate con GnRH poi, in ordine decrescente, da maschi in ADT, da donne che passano dal tamoxifene ad AI e da donne in AI, se di età > di 70 anni. Il rischio di Fx sembra essere maggiormente legato a difetti qualitativi del tessuto osseo (*turn-over*) piuttosto che quantitativi (*BMD*), (3, 5, 7, 8).

Questa tipologia di soggetti può presentare, indipendentemente dalla terapia ormonale, una elevata prevalenza di fattori di rischio per Op/Fx da fragilità. Pertanto, al momento della presa in carico del paziente deve essere sempre esclusa la presenza di fx vertebrali (9, 10); è raccomandabile il monitoraggio dell'altezza, in quanto una sua diminuzione (*2-4 cm/anno*), deve far sospettare la presenza di Fx ed imporre l'esecuzione di una radiografia del rachide o di un'analisi morfometrica DEXA (11).

### ■ QUANDO INIZIARE IL TRATTAMENTO DELLA CTIBL?

Non vi è consensus su quando iniziare la terapia per prevenire la CITBL e le sue complicanze. La presenza di fattori di rischio indipendenti per osteoporosi ha progressivamente portato a considerare livelli sempre più conservativi di BMD specialmente se in presenza di ulteriori fattori di rischio per Op (14, 15). L'atteggiamento più condiviso è quello di cominciare il trattamento farmacologico con inibitori del riassorbimento osseo quando si inizi la terapia ormonale adiuvante o in caso di menopausa indotta farmacologicamente come confermato dal-

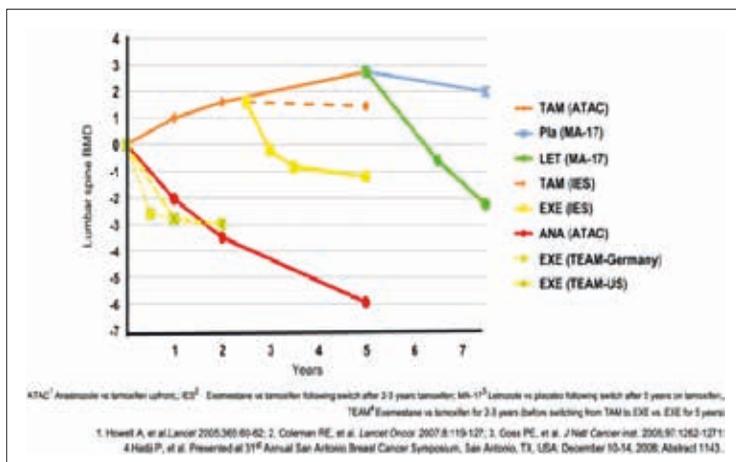


Figura 4

le recenti linee guida internazionali (ESMO 2015) (12, 13) e nazionali (AIOM 2016, SIOMMMS 2016) (11) e come reso possibile in Italia dalla nota 79 del 2015.

Nelle donne giovani, in premenopausa, in trattamento ormonale con tamoxifene, viene consigliato un analogo atteggiamento in quanto è dimostrato che anche il tamoxifene non è esente da effetti negativi sulla salute dell'osso (7).

Per i pazienti in terapia ormonale adiuvante, le considerazioni che hanno spinto la comunità scientifica a consigliare questo atteggiamento sono figlie delle seguenti evidenze:

- assenza di una soglia definita di BMD (*T-score*) e di predittività della BMD stessa nei confronti del rischio di frattura;
- presenza di perdita elevata di massa ossea in tutte le forme di Op indotte dalla terapia ormonale adiuvante da considerarsi, perciò, come fattore di rischio indipendente;
- presenza di elevata prevalenza di Op/Fx e di altri fattori di rischio di Fx in pazienti con cancro della mammella e della prostata;
- evidenza forte di maggior efficacia della terapia con antiassorbitori ossei, se iniziata con la terapia ormonale adiuvante e non dopo diminuzione della BMD o in presenza di Fx (16-18);
- evidenza forte che, nei pazienti in trattamento con Dnb, la riduzione del rischio di Fx prescinde dai valori di BMD presenti all'inizio del trattamento (5).

#### ■ PER QUANTO TEMPO TRATTARE LA CTIBL?

Per quanto riguarda la CTIBL, dai dati di letteratura, non vi è un completo accordo sulla durata del trattamento dell'Op con antiassorbitori ossei. La raccomandazione attuale è quella di proseguire la terapia con Bps/Dnb fino alla sospensione del trattamento ormonale adiuvante (*con inibitori GnRH e/o AI e ADT*). Tutto ciò in relazione all'evidenza, negli studi registrativi degli AI, che il numero delle fx si riduce e la BMD aumenta per riduzione del turnover osseo (14, 19).

In base ai dati di letteratura, va sottolineato

come, nel decennio successivo alla sospensione della terapia ormonale adiuvante, il rischio di Fx si mantenga elevato rispetto alla popolazione sana di riferimento (20) specialmente in soggetti che hanno avuto FX in corso della terapia stessa. Vanno inoltre sottolineati due aspetti legati alla sospensione del trattamento farmacologico:

- 1) la presenza di effetto "coda" sulla BMD e sulle fratture per i Bps. Ciò non avviene per il Dnb in relazione alla ripresa del turnover ed alla diminuzione della BMD che si verificano immediatamente alla sospensione del farmaco;
- 2) la segnalazione di un incremento di eventi fratturativi (*case report*) che andrebbe confermata con studi a lungo termine su un campione di popolazione adeguata (21, 22).

Queste ultime considerazioni impongono ai clinici un'attenta valutazione del profilo residuo di rischio di Fx dei pazienti al momento della sospensione della terapia antiassorbitiva.

Inoltre si raccomanda di proseguire la supplementazione di calcio e di vitamina D. Al termine della terapia ormonale adiuvante, nei pazienti che presentano Fx cliniche o morfometriche, va attentamente valutata l'opportunità di proseguire il trattamento con farmaci antiassorbitori (23, 24); è preclusa la possibilità di ricorrere alla terapia anabolica.

#### ■ QUALE STRATEGIA FARMACOLOGICA NELLA CITBL?

Il trattamento con la sola supplementazione con vitamina D e calcio non ha alcuna dimostrazione di efficacia nella CITBL, tuttavia è da considerarsi indispensabile, sia dal punto di vista fisiologico, sia per raggiungere il risultato antifratturativo atteso. La supplementazione con calcio e vitamina D va iniziata prima od all'inizio della terapia antiassorbitiva.

Devono infatti essere corretti, prima di intraprendere la terapia farmacologica con antiassorbitivi, eventuali stati di insufficienza/carenza di vitamina D.

Gli aminobisfosfonati ed il denosumab

sono considerati i farmaci di prima scelta nel trattamento della CITBL in quanto prevenono la perdita di massa ossea.

In entrambi i sessi, gli aminobisfosfonati utilizzati per il trattamento della CITBL sono l'alendronato, il residronato e l'ibandronato agli stessi dosaggi usati per la riduzione del rischio di frattura nella Op postmenopausale (14, 15). L'ibandronato non è registrato per il maschio e non è incluso nella nota 79 per la prevenzione della CITBL.

L'acido zoledronico, invece, è stato impiegato a dosaggi decisamente più elevati rispetto all'Op postmenopausale (4 mg/6 mesi) con effetti sulla BMD sovrapponibili a quelli evi-

denziatisi nella OP postmenopausale (16). Tutti gli aminobisfosfonati hanno mostrato effetti positivi sulla BMD ma, ad oggi, non sono disponibili dati certi sulla loro efficacia antifratturativa nella CITBL (24). L'efficacia antifratturativa è dimostrata solo per il Dnb, al dosaggio di 60mg/6 mesi, nel carcinoma mammario, in pazienti in trattamento con AI, per fratture cliniche (vertebrali e non vertebrali) e nel carcinoma prostatico a livello vertebrale (5, 25). Il Dnb è in grado di ridurre del 50% tutte le Fx vertebrali e non vertebrali cliniche e del 60% le nuove Fx vertebrali comprese quelle morfometriche.

L'effetto antifratturativo del Dnb è rapido, già evidente nel primo anno di trattamento (5, 25), risulta indipendente dall'età, dalla durata della terapia ormonale e dalla BMD (5). Per quanto riguarda la BMD, nei soggetti con K prostatico e K mammario, il grado e l'andamento lineare e progressivo del suo incremento è sovrapponibile a quello rilevato nella Op postmenopausale (Fig. 5, e 6).

In base alle evidenze, l'ultima revisione della nota 79 prevede la rimborsabilità, in prevenzione primaria per le donne in menopausa e per gli uomini al di sopra dei 50 anni di età, per tutta la durata della terapia ormonale adiuvante, per i seguenti farmaci ai dosaggi indicati:

- alendronato 70 mg/sett.,
- risedronato 35 mg/sett.,
- ac. zoledronico 5 mg/anno,
- Denosumab 60 mg/6 mesi (con piano terapeutico AIFA annuale).

Sono escluse dai criteri di rimborsabilità le donne con K mammario con meno di 50 anni, non in terapia ormonale adiuvante, ma in menopausa indotta da chemioterapici. Questi soggetti sono comunque da considerarsi ad elevato rischio per Op/Fx. Per tale categoria di pazienti si consiglia la valutazione per Fx vertebrali morfometriche onde poterle includere nei criteri di rimborsabilità previsti dalla nota 79.

## CONCLUSIONI

La CITBL rappresenta una condizione clinica caratterizzata da compromissione della salute dell'osso e da rischio di Fx elevato (Tabella I):

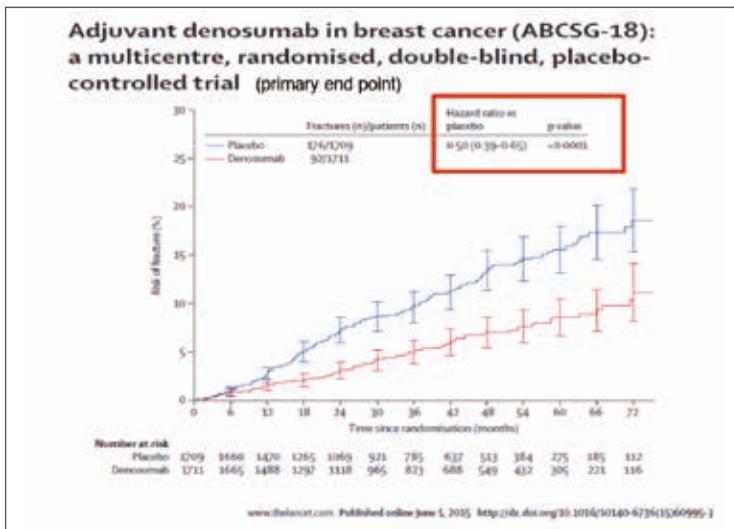


Figura 5

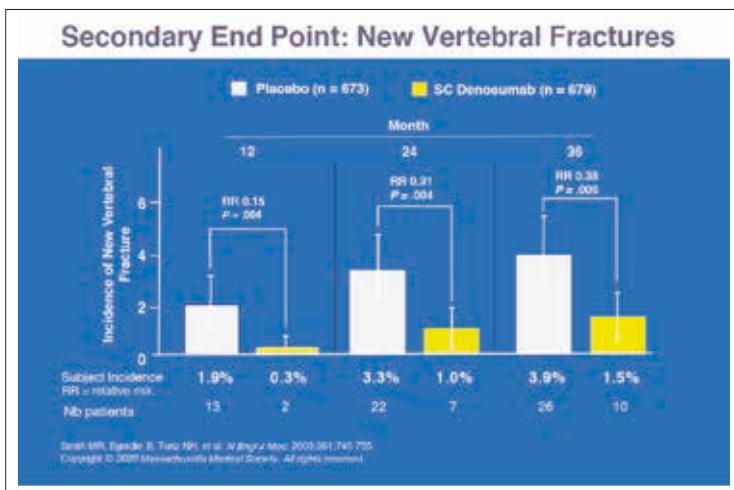


Figura 6

Tabella I - Linee Guida IOM 2016.

Grado di raccomandazione SIGN	Raccomandazione clinica	Forza della raccomandazione clinica
B	Per i pz. in terapia ormonale adiuvante e con menopausa secondaria a chemioterapia va iniziata subito la terapia con inibitori del riassorbimento osseo	Positiva forte
B	Per i pz. in terapia ormonale adiuvante la terapia con farmaci antiassorbitivi andrebbe protratta per tutta la durata del trattamento ormonale adiuvante	Positiva forte
B	Gli aminobisfosfonati orali (alendronato, risedronato e ibandronato) e endovenosi (ac zoledronico 5 mg/anno) prevengono la perdita di massa ossea. Il dato antifratturativo è indiretto, dedotto da quanto avviene nell'osteoporosi postmenopausale	Positiva debole
A	Il denosumab previene le fratture vertebrali cliniche e morfometriche nel maschio con K della prostata in blocco androgenico e le fratture vertebrali e non vertebrali nella donna con tumore della mammella in postmenopausa in terapia con inibitori della aromatasi	Positiva forte
B	La supplementazione con calcio e vitamina D da sola non è in grado di prevenire o curare la CTIBL ma la loro associazione con farmaci antiassorbitivi è fondamentale per l'effetto antifratturativo e per evitare l'ipocalcemia	Positiva forte

- il rischio di fx è precoce rispetto all'inizio della terapia ormonale ed indipendente dalla BMD; i pazienti a maggior rischio sono nell'ordine:
  - le donne in premenopausa (alla diagnosi di K mammario), pur se non in terapia ormonale adiuvante,
  - gli uomini con K della prostata,
  - le donne che passano dal tamoxifene agli inibitori della aromatasi,
  - le donne in terapia con AI;
- la terapia con antiassorbitivi va intrapresa all'inizio della terapia ormonale adiuvante e proseguita almeno per la durata della stessa;
  - per i bisfosfonati vi è evidenza di efficacia per impedire la perdita di massa ossea (BMD), ma non sulla prevenzione delle fratture;
  - per il Denosumab vi è evidenza di efficacia sulla prevenzione delle fratture con effetto rapido, indipendente dalla età e dalla BMD;
  - la supplementazione con calcio e vitamina D non riveste alcun ruolo terapeutico, è tuttavia importante per garantire al meglio l'effetto antifratturativo degli antiassorbitivi.

### RIASSUNTO

Il blocco ormonale nel trattamento del carcinoma mammario e prostatico in fase precoce provoca effetti negativi sulla salute dell'osso caratterizzati da accelerazione del turn over, osteoporosi ed aumento considerevole del rischio di frattura secondari al marcato ipoestrogenismo tissutale indotto. Tale entità clinica viene definita con un acronimo CTIBL (cancer therapy induced bone loss). Il livello di incremento del turn-over osseo, che compare non appena instaurato il blocco ormonale, varia fra le varie tipologie di pazienti (maschi, donne in pre e postmenopausa) ed è in relazione alle diverse tipologie di blocco ormonale (menopausa indotta da chemioterapia, da GnRH ± Tamoxifene e da inibitori dell'aromatasi, da blocco androgenico). In questi soggetti, a differenza della osteoporosi postmenopausale, una "soglia densitometrica" di frattura non è definibile in quanto, il rischio fratturativo è da considerarsi un continuum. È ormai prassi consolidata effettuare strategia di prevenzione sulle complicanze ossee in questa categoria di pazienti. Vi è una forte evidenza che i pazienti in blocco ormonale hanno una elevata prevalenza di osteoporosi e fratture e di altri fattori di rischio per frattura. Appare inoltre chiaro che la terapia più raccomandata ed efficace per la prevenzione della CTIBL è quella con antiassorbitivi ossei (bisfosfonati, Denosumab) associata a supplementazione di calcio e di vitamina D. La terapia va iniziata non appena instaurato il blocco ormonale. Inoltre vi è evidenza che, in questi pazienti, il rischio fratturativo permane elevato anche dopo sospensione della terapia ormonale per cui è necessario valutare il loro profilo di rischio, la eventuale presenza di fratture vertebrali (morfometriche e non) per decidere una eventuale prosecuzione della terapia farmacologica. Per la terapia della CTIBL si utilizzano alendronato e risedronato agli stessi dosaggi usati nella osteoporosi postmenopausale per la riduzione del rischio di frattura; per l'acido zoledronico il dosaggio è doppio. Tutti i bisfosfonati hanno mostrato effetti sulla BMD ma non sono disponibili dati certi sulla riduzione del rischio di frattura. Per quanto riguarda il Denosumab, sia nell'uomo che nella donna, al dosaggio di 60 mg ogni 6 mesi, vi è evidenza di efficacia sulla prevenzione delle fratture; l'effetto del Denosumab è rapido, indipendente dalla BMD e dalla durata della terapia ormonale. La nuova nota 79 ha recepito tali concetti e pertanto prevede la rimborsabilità in prevenzione primaria per donne e uomini al di sopra dei 50 anni per tutta la durata della terapia ormonale adiuvante per alendronato (70 mg/sett), risedronato (35 mg/sett), acido zoledronico (5 mg/anno), Denosumab (60 mg/6mesi con piano terapeutico AIFA annuale).

## ■ BIBLIOGRAFIA

- Vanderschueren D, Laurent MR, Claessens F, Gielen E, Lagerquist MK, Vandenput L, Börjesson AE, Ohlsson C. Sex steroid actions in male bone. *Endocr Rev.* 2014; 35: 906-60.
- Shao YH, Moore DF, Shih W, Lin Y, Jang TL, Lu-Yao GL. Fracture after androgen deprivation therapy among men with a high baseline risk of skeletal complications. *BJU Int.* 2013; 111: 745-52.
- Hadji P, Gnani M, Body JJ, Bundred NJ, Brufsky A, Coleman RE, Guise TA, Lipton A, Aapro MS. Cancer treatment-induced bone loss in premenopausal women: a need for therapeutic intervention? *Cancer Treat Rev.* 2012; 38: 798-806
- Kwan ML, Lo JC, Tang L, Laurent CA, Roh JM, Chandra M, Hahn TE, Hong CC, Sucheston-Campbell L, Hershman DL, Quesenberry CP Jr, Ambrosone CB, Kushi LH, Yao S. Bone health history in breast cancer patients on aromatase inhibitors. *PLoS One.* 2014; 9: e111477.
- Gnant M, Pfeiler G, Dubsy PC, Hubalek M, Greil R, Jakesz R, Wette V, Balic M, Haslbauer F, Melbinger E, Bjelic-Radisic V, Artner-Matuschek S, Fitzal F, Marth C, Sevela P, Mlineritsch B, Steger GG, Manfreda D, Exner R, Egle D, Bergh J, Kainberger F, Talbot S, Warner D, Fesl C, Singer CF. Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group94. Adjuvant denosumab in breast cancer (ABCSG-18): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2015; S0140-6736(15)60995-3.
- Eastell R, Adams JE, Coleman RE, Howell A, Hannon RA, Cuzick J, Mackey JR, Beckmann MW, Clack G. Effect of anastrozole on bone mineral density: 5-year results from the anastrozole, tamoxifen, alone or in combination trial 18233230. *J Clin Oncol.* 2008; 26: 1.
- Zaman K, Thürlimann B, Huober J, Schönenberger A, Pagani O, Lüthi J, Simcock M, Giobbie-Hurder A, Berthod G, Genton C, Brauchli P, Aebi S; Swiss Group for Clinical Cancer Research (SAKK). Bone mineral density in breast cancer patients treated with adjuvant letrozole, tamoxifen, or sequences of letrozole and tamoxifen in the BIG 1-98 study (SAKK 21/07). *Ann Oncol.* 2012; 23: 1474-81.
- Diamond TH, Higano CS, Smith MR, Guise TA, Singer FR. Osteoporosis in men with prostate carcinoma receiving androgen-deprivation therapy: recommendations for diagnosis and therapies. *Cancer.* 2004; 100: 892-9.
- Hussain SA, Weston R, Stephenson RN, et al. Immediate dual energy Xray absorptiometry reveals a high incidence of osteoporosis in patients with advanced prostate cancer before hormonal manipulation. *BJU.* 2003; 92: 690-4.
- Bouvard B, Hoppé E, Soulié P, Georgin-Mege M, Jadaud E, Abadie-Lacourtoisie S, Petit Le Manac'h A, Laffitte A, Levasseur R, Audran M, Chappard D, Legrand E. High prevalence of vertebral fractures in woman with breast cancer starting aromatase inhibitor therapy. *Ann Oncol.* 2012; 23: 1151-6.
- Rossini M, Adami S, Bertoldo F, Diacinti D, Gatti D, Giannini S, Giusti A, Malavolta N, Minisola S, Osella G, Pedrazzoni M, Sinigaglia L, Viapiana O, Isaia GC, Guidelines for the diagnosis, prevention and management of osteoporosis. *Reumatismo.* 2016; 68:1-39.
- E. Senkus, S. Kyriakides, S. Ohno, F. Penault-Llorca, P. Poortmans, E. Rutgers, S. Zackrisson, and F. Cardoso, *Ann Oncol.* 2015; 26 (Suppl. 5): v8-v30.
- C. Parker, S. Gillessen, A. Heidenreich, A. Horwich, *Ann Oncol.* 2015; 26 (Suppl. 5): v69-v77.
- Coleman R, Body JJ, Aapro M, Hadji P, Herrstedt J; on behalf of the ESMO Guidelines Working Group Bone health in cancer patients: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol.* 2014; 25 (Suppl. 3): iii124-37.
- Rizzoli R, Body JJ, Brandi ML, Cannata-Andia J, Chappard D, El Maghraoui A, Glüer CC, Kendler D, Napoli N, Papaioannou A, Pierroz DD, Rahme M, Van Poznak CH, de Villiers TJ, El Hajj Fuleihan G; International Osteoporosis Foundation Committee of Scientific Advisors Working Group on Cancer-Induced Bone Disease. Cancer-associated bone disease. *Osteoporos Int.* 2013; 24: 2929-53.
- Coleman R, de Boer R, Eidtmann H, Llombart A, Davidson N, Neven P, von Minckwitz G, Sleeboom HP, Forbes J, Barrios C, Frassoldati A, Campbell I, Pajja O, Martin N, Modi A, Bundred N. Zoledronic acid (zoledronate) for postmenopausal women with early breast cancer receiving adjuvant letrozole (ZO-FAST study): final 60 month results. *Ann Oncol.* 2013; 24: 398-405
- F Greenspan SL, Nelson JB, Trump DL, Wagner JM, Miller ME, Perera S, Resnick NM Skeletal health after continuation, withdrawal, or delay of alendronate in men with prostate cancer undergoing androgen-deprivation therapy. *J Clin Oncol.* 2008; 26: 4426-34.
- Adel-Rhaman O. Denosumab versus zoledronic acid to prevent aromatase inhibitors associated fractures in postmenopausal early breast cancer; a mixed treatment metanalysis *Expert Rev Anticancer Ther.* 2016; 1-7.
- Forbes JF, Cuzick J, Buzdar A, Howell A, Tobias JS, Baum M, ATAC Trialists' Group. Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early-stage breast cancer: 100 months analysis of the ATAC trial. *Lancet Oncol.* 2008; 9: 45-53.
- Koopal C, Janssen-Heijnen ML, van de Wouw AJ, van den Bergh JP. Fracture incidence in pre- and postmenopausal women after com-

- pletion of adjuvant hormonal therapy for breast cancer *Breast*. 2015; 24: 153-8.
21. Anastasilakis AD, Makras P. *Osteoporos Int*. 2016; 17: 1929.
  22. Aubry-Rozier B et al. *Osteoporos Int*. 2016; 27: 192.
  23. Gehlbach S., et al. Previous fractures at multiple sites increase the risk for subsequent fractures: The global longitudinal study of osteoporosis in women. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2012; 27: 645-53.
  24. Serpa Neto A, Tobias-Machado M, Esteves MA, Senra MD, Wroclawski ML, Fonseca FL, Dos Reis RB, Pompeo AC, Giglio AD. Bisphosphonate therapy in patients under androgen deprivation therapy for prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2012; 15: 36-44.
  25. Smith MR, Egerdie B, Hernández Toriz N, Feldman R, Tammela TL, Saad F, Heracek J, Szwedowski M, Ke C, Kupic A, Leder BZ, Goessl C; Denosumab HALT Prostate Cancer Study Group. Denosumab in men receiving androgen-deprivation therapy for prostate cancer. *N Engl J Med*. 2009; 8: 745-55.

# FANS

## NSAIDs

L. Pietrogrande<sup>1</sup>, E. Raimondo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi, Milano, Direttore Prof. Silvio Scarone;

<sup>2</sup>U.O. Ortopedia e Traumatologia Ospedale San Paolo, A.S.S.T. Santi Paolo e Carlo, Milano, Direttore prof. Luca Pietrogrande

### SUMMARY

The inhibitory action of prostaglandin synthesis is the basis for a supposed action on the bone of the NSAIDs (Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs), some of the most used drugs. There are, however, few published data on this action, except for the inhibition of bone healing by the NSAIDs.

In the late nineties some studies demonstrating a positive effect of the NSAIDs on bone mass were edited. The positive effect seemed more evident for propionic NSAIDs (ibuprofen, ketoprofen...) and ASA, mainly in association with the COX-2 inhibitors.

Few years later some clinical studies, variously designed (prospective, retrospective, and case-control), based on large population samples (a range from about 2,000 to 300,000 subjects), demonstrated, unexpectedly, an increase of the fracture risk in NSAIDs users. The risk resulted variable for different NSAIDs molecules, but there were not a concordance among the studies, except for a not increased risk for ASA.

An increased risk of a second hip fracture after the first fragility hip fracture in NSAIDs users, dose- and time-dependent, has been recently demonstrated in two propensity-score matching studies on a large population data-base in Taiwan.

The cellular and molecular effects of the NSAIDs on bone tissue have not yet well clarified. An inhibition of the osteoblastogenesis, but also of the osteoclastogenesis has been demonstrated with different NSAIDs used in cellular cultures. These evidences could explain the increased fracture risk due to a decrease of the biomechanical properties of the bone, without a decreased bone mass.

Reumatismo, 2016; 68 (S3): 60-66

### ■ INTRODUZIONE

I FANS sono tra i farmaci più utilizzati, soprattutto negli anziani, e la loro azione di inibizione della sintesi delle prostaglandine è presupposto per una loro interferenza anche con il metabolismo osseo, ma questo aspetto appare poco studiato in letteratura (1-3).

Se abbastanza numerosi sono gli studi sul ruolo dei FANS nella riparazione delle fratture, dove sembrano inibire le fasi iniziali dominate da fenomeni infiammatori, (4-10) scarsi sono i lavori su di un loro ruolo nell'osteoporosi. Per di più, accanto a dati che sembravano far supporre un loro effetto positivo con aumento della massa ossea, sono comparsi dati su loro effetto negativo con aumento del rischio di frattura.

Scopo di questa review è quello di analizzare questi contributi pubblicati più o meno

recentemente al fine di poter dare elementi con cui orientarsi nella pratica clinica quotidiana nell'uso dei FANS in funzione di un loro eventuale e controverso effetto sull'osso.

### ■ FANS E MASSA OSSEA

Negli anni '90 compaiono due studi sperimentali su animali che dimostrano un effetto positivo dei FANS sulla massa ossea: uno utilizzando il naprossene in ratte femmina ovariectomizzate (11) e l'altro l'ibuprofene in gerbils (12).

Sulla base di queste evidenze a fine anni 90 viene pubblicato il Rancho Bernardo Study dove gli autori concludevano che l'uso cronico di antiinfiammatori derivati dall'acido propionico può essere utile nel prevenire la perdita ossea in donne anziane. Lo studio osservazionale, cui parteciparono 932 don-

Indirizzo per la corrispondenza:  
L. Pietrogrande  
E-mail: luca.pietrogrande@unimi.it

ne caucasiche che vivevano in comunità, con età media di 72 anni (min 44, max 98), prevedeva la compilazione di un questionario sull'uso di FANS, validato da personale infermieristico, e la misurazione della BMD in 5 siti (colonna lombare, femore totale e collo, radio diafisi e ultradistale). Tra le partecipanti vennero individuate 114 utilizzatrici abituali di FANS, di cui 84 di derivati propionici (ibuprofene e naprossene soprattutto), e le altre di derivati acetici (indometacina, diclofenac e sulindac). Le donne che usavano i derivati propionici avevano una BMD maggiore in tutti e 5 i siti valutati e significativamente maggiore alla colonna ed alla diafisi radiale, anche dopo correzione per le covariate riguardanti l'osteoporosi. Dopo aver escluso le donne che avevano riferito di essere affette da artrosi, la BMD è risultata significativamente più alta anche nei due siti femorali. Le donne che assumevano estrogeni e derivati propionici avevano massa ancor più alta per un effetto additivo (13).

Nel 2003 venne confermata una relazione positiva tra assunzione di FANS e massa ossea, valutando anche il ruolo dell'aspirina e della selettività dei diversi FANS in uno studio clinico su 2.853 adulti (età media 73,6 anni, 49,5% donne e 50,5% uomini di varie razze) provenienti dalla coorte dello studio Health ABC. La massa ossea, misurata con DXA total body e total hip, dopo correzione per numerosi fattori confondenti, è risultata significativamente maggiore solo per gli utilizzatori di FANS con relativa attività COX-2 inibitoria (celecoxib, piroxicam, etodolac, nabumetone, diclofenac, meclofenamate sodium, salsalate, sulindac i più usati) assunti assieme all'aspirina, mentre per i FANS con relativa selettività per COX-1 l'aumento della massa ossea non è risultato significativo e per l'aspirina da sola la significatività è stata riscontrata solo per il total body. Nella valutazione con la TAC quantitativa vertebrale gli aumenti sono stati significativi sia per la spongiosa che la corticale per i FANS relativamente selettivi per la COX-1, per l'aspirina da sola e per i selettivi per la COX-2 associati all'aspirina (14).

Nel 2008 Shi et al. dimostrarono in tope

ovariectomizzate un'azione positiva dell'aspirina sulla massa ossea e ipotizzarono un'inibizione dell'apoptosi delle cellule mesenchimali mediato da un'azione sui linfociti T (15).

## ■ FANS E RISCHIO DI FRATTURA

Accanto a questi dati, apparentemente concordi nell'indicare un effetto positivo dei FANS sul metabolismo scheletrico, così come ci si poteva attendere dalla loro azione sulle prostaglandine, sono stati pubblicati, a partire dal 1996, studi che ricercavano un possibile effetto di riduzione del rischio di frattura.

Nel 1996 Bauer et al. dopo aver seguito per 4 anni 7.786 donne bianche ultrasessantacinquenni, rilevando la BMD e le fratture clinicamente evidenti, concludevano che l'uso cronico di aspirina e FANS può avere un modesto (1,0-3,1%) effetto positivo sulla massa ossea, ma non vi è nessuna riduzione del rischio di frattura (16).

Nel 2000 van Staa et al. analizzarono retrospettivamente i dati del database nazionale dei medici di medicina generale del Regno Unito per valutare il rischio di frattura in una popolazione reale esposta ai FANS, per mezzo di uno studio retrospettivo di coorte. Nel database furono individuati i soggetti oltre i 18 anni che avevano avuto una o più prescrizioni di FANS tra il 1987 ed il 1997. Questi vennero poi suddivisi in due gruppi in base alla quantità di prescrizioni: 214.577 soggetti con 3 o più prescrizioni di FANS, definiti utilizzatori regolari; 286.850 con 1-2 prescrizioni, utilizzatori occasionali. Furono poi individuati casualmente 214.577 controlli, appaiati per età. Il rischio di frattura nella popolazione del gruppo di controllo risultò essere simile a quello della popolazione generale, con un'incidenza di fratture di 1,3 negli uomini (1,2 nella popolazione generale) e 3,0 nelle donne (2,7) con età tra 75 e 84 anni, di 2,1 negli uomini (2,2) e 4,5 nelle donne (4,5) con 85 o più anni. Il rischio relativo di fratture non vertebrali nei soggetti esposti ad un uso regolare di FANS, rispetto al controllo, risultò essere di 1,47 (95% intervallo di confidenza [CI] 1,42-1,52) e quello

di fratture del femore di 1,08 (0,98-1,19). Nessuna differenza fu rilevata rispetto agli utilizzatori occasionali (RR 1,04; 95% CI 0,99-1,09) e neppure tra utilizzatori di diversi FANS, diclofenac e naprossene rispetto ad ibuprofene. Conclusero pertanto che non vi era nessun elemento per dire che i FANS abbiano un effetto clinicamente rilevante sul metabolismo osseo nella popolazione studiata (17).

Nel 2006 Vestergaard e colleghi pubblicarono uno studio caso-controllo su base nazionale per individuare gli effetti sul rischio di frattura dell'uso di farmaci analgesici non oppioidi, ma anche della presenza di artrosi ed artrite. I soggetti studiati furono tutti quelli che avevano riportato una frattura durante il 2000 in Danimarca (124.655) e per ogni caso furono scelti casualmente 3 controlli (373.962), appaiati per età e sesso, dalla popolazione generale. Inizialmente fu considerata l'esposizione al paracetamolo, ai FANS o all'ASA, esaminando l'effetto per mezzo di una stratificazione in base alla dose cumulativa assunta (definita come defined daily dose, DDD) e facendo aggiustamenti per diversi elementi confondenti (situazione socio economica e familiare, comorbilità, altri farmaci potenzialmente rischiosi per cadute o fragilità ossea). I risultati evidenziarono un piccolo aumento del rischio di frattura in chi aveva utilizzato il paracetamolo nell'ultimo anno (OR=1,45, 95% CI 1,41-1,49) ed un rischio invariato per chi aveva assunto l'ASA. Mentre per i FANS i risultati furono eterogenei con un rischio di frattura per una DDD <20 significativamente più alto per l'indometacina (OR=2,70, 95% CI 1,06-6,88), per il tenoxicam (OR=2,27, 95% CI 0,80-6,42), per l'ibuprofene (OR=2,09, 95% CI 2,00-2,18), per il naprossene (OR=2,06, 95% CI 1,77-2,40) fino a valori di non significatività per altri FANS come il ketoprofene o il celecoxib. Con l'aumentare della dose il rischio diminuiva per quasi tutti i FANS, forse, suggeriscono gli autori, perché potrebbe comparire l'effetto positivo sulla massa ossea. L'artrosi risultò essere un fattore di riduzione del rischio di frattura (OR=0,70, 95% CI 0,67-0,72) se la diagnosi risaliva ad oltre un anno prima, mentre l'artrite

reumatoide costituiva un fattore di aumento del rischio di frattura (OR=1,86, 95% CI 1,68-2,07), se la diagnosi era più recente di 1 anno. Gli autori concludevano che i deboli analgesici possono essere associati in vario modo con il rischio di frattura, spesso con modesto aumento del rischio a dosi basse, ma non con il crescere della dose, ma che la mancanza di alcuni dati, come l'aderenza alla terapia, possano influenzare i risultati (18).

Ancora Vestergaard et al. riportarono nel 2011 i dati dello studio DOPS (Danish Osteoporosis Prevention Study), in cui 2016 donne in perimenopausa furono seguite per 10 anni, come parte di uno studio in parte randomizzato sulla terapia ormonale sostitutiva, registrando le fratture clinicamente evidenti, la BMD ed altri dati, in rapporto all'assunzione di FANS, paracetamolo, aspirina ed oppioidi. Sebbene vi fossero delle differenze tra le utilizzatrici di questi farmaci e le non utilizzatrici in termini di peso corporeo (peso più alto per le utilizzatrici di paracetamolo e FANS) e valori di 25-OH vitamina D (più bassa tra le utilizzatrici croniche di aspirina ed oppioidi), nessuna differenza significativa, se non una piccola tendenza all'aumento, fu riscontrata nella BMD di colonna, anca, avambraccio e total body in 10 anni. Dopo aggiustamento per i fattori confondenti, però, le utilizzatrici croniche di FANS risultarono aver avuto più fratture (HR=1,44, 95% CI 1,07-1,93) in modo significativo, mentre le utilizzatrici di paracetamolo ed oppioidi presentarono solo una tendenza non significativa in questo senso e quelle di aspirina non presentarono nessun aumento del rischio di frattura (19).

Negli ultimi due anni sono comparsi due studi clinici su FANS ed osteoporosi, realizzati da un gruppo di Taiwan, che affrontano il rischio di frattura scegliendo una popolazione ad alto rischio di frattura, cioè coloro che hanno subito una prima frattura di femore (20, 21).

Nel 2015 è stato pubblicato un primo studio di coorte caso-controllo basato, sui dati del sistema sanitario nazionale di Taiwan, dai quali è stato estratto casualmente un campione di 1 milione di soggetti e tra

Tabella I

Anno	Autore	Disegno	Popolazione	Età media	Mssa ossea	Rischio di frattura	Molecole con effetto su osso	Qualità
1996	Bauer DC	prospettivo 4 anni	7.786 donne bianche >65	74	lieve aumento	invariato	sia FANS che ASA	++
1998	Morton DJ	osservazionale	932 donne istituzionalizzate	72	aumentata	n.v.	solo con FANS propionici	++
2000	van Staa TP	retrospettivo	715.000 adulti dal sistema sanitario UK	55	n.v.	aumento non significativo	non differenze	++
2003	Carbone LD	osservazionale	2.853 uomini e donne studio Health ABC	73,6	aumentata	n.v.	solo con anti COX-2 prevalente (non propionici)	+++
2006	Vestergaard P	caso-controllo 1 anno	598.000 da database nazionale danese	43,4	n.v.	aumentato inversamente dose	per indometcina, tenoxicam, ibuprofene, naprossene	+++
2011	Vestergaard P	prospettivo 10 anni	2.016 donne da DOPStudy	50	tendenza all'aumento	aumentato	non valutate ASA invariato	+++
2015	Huang KC	caso-controllo propensity score 10 a.	34.725 adulti >40 a. dal sistema sanitario di Taiwan	72	n.v.	aumentato 2° frattura femore	non valutate	++
2016	Chuang PY	caso-controllo propensity score 5 a.	1.500 adulti >40 a. dal sistema sanitario di Taiwan	74	n.v.	aumentato 2° fr. femore dose dipendente	diclofenac celecoxib più rischio oltre 60 a.	+++

questi sono stati identificati 34.725 pazienti, di 40 anni o più, che avevano sostenuto una frattura del femore prossimale trattata chirurgicamente tra il 1999 ed il 2009. Per definire un uso cronico di FANS è stato individuato un uso per almeno 14 giorni al mese per 3 mesi e per controllare gli attori confondenti i dati sono stati accoppiati tramite la tecnica del “propensity-score”. L’analisi dei dati ha mostrato che l’uso cronico di FANS costituisce un significativo fattore di rischio per la seconda frattura di femore nei pazienti che sono stati operati per la prima, con una OR=2,15 (95% CI: 2,07-2,33). Tramite l’utilizzo delle curve di Kaplan-Meier il rischio aumentato si è confermato anche per diversi sottogruppi di varia età e in sottogruppi con Charlson Comorbidity Index maggiore uguale a 5 o <5, con o senza diabete mellito, ipertensione o iperlipidemia. Gli autori raccomandano pertanto di ridurre l’uso clinico dei FANS nei fratturati di femore (20).

Lo stesso gruppo di Taiwan ha pubblicato un secondo studio, nel quale ha identificato i pazienti di 40 o più anni, che hanno avuto

una prima frattura di femore, trattata chirurgicamente, tra il 1996 ed il 2004 e li ha seguiti fino al 2009. Tra questi, utilizzando sempre il “propensity-score matching” per controllare i fattori confondenti, come le comorbilità o l’uso di bisfosfonati, hanno identificato 94 casi di pazienti con una seconda frattura di femore e 461 controlli senza nuova frattura. I farmaci studiati sono stati i FANS, comparati con il paracetamolo ed il desametasone. Dall’analisi dei dati è risultata una correlazione fortemente negativa (Pearson’s  $r=-0,920$ ,  $P=0,003$ ) tra dose giornaliera media di FANS e probabilità di incorrere nella seconda frattura di femore, a testimonianza di un rischio di frattura più elevato per dosi elevate di FANS. Attraverso le curve di Kaplan-Meier si è poi evidenziato una tendenza all’aumento del rischio della seconda frattura nella popolazione esposta ai FANS ( $P<0,001$ ). Inoltre nei pazienti esposti ai FANS di 60 o più anni il rischio della seconda frattura era maggiore rispetto a quelli con meno di 60 anni se assumevano diclofenac ( $P=0,016$ ) e celecoxib ( $P=0,003$ ) o il desametaso-

ne ( $P=0,018$ ), ma non il paracetamolo ( $P=0,074$ ). Gli autori concludono che dai dati analizzati risulta un rischio dose e tempo dipendente di incorrere in una seconda frattura significativamente più elevato nei pazienti che assumono FANS, soprattutto se anziani (21).

### ■ POSSIBILI MECCANISMI D'AZIONE

Scarsi e controversi sono i dati riguardo i possibili meccanismi attraverso i quali i FANS possano avere un effetto su massa ossea e rischio di frattura. C'è qualche evidenza sul ruolo delle prostaglandine sul metabolismo osseo, ma la loro azione può differire anche in senso diametralmente opposto in base alla prostaglandina coinvolta ed alla ciclossigenasi attivata, COX-1 o COX-2. Nell'osso normale, in risposta agli stimoli meccanici, prevale la  $PGE_2$  che ha un'azione anabolica sulla proliferazione ed azione degli osteoblasti tramite un'attivazione della COX-2. Mentre in situazioni patologiche, ad esempio di infiammazione, la  $PGE_2$  può stimolare il riassorbimento dell'osso tramite un aumento dell'attività degli osteoclasti. Nella riparazione delle fratture le prostaglandine sembrano esercitare entrambe le azioni in fasi temporalmente diverse (22).

Già nel 1999 veniva dimostrata una controversa azione delle prostaglandine e dei FANS (ketorolac e indometacina), che risultavano entrambi inibire la sintesi di DNA e la mitosi di pre-osteoblasti in culture cellulari, con per altro un aumento della produzione di fosfatasi alcalina e collagene tipo I nelle fasi iniziali di differenziazione in osteoblasti (23).

Queste incertezze venivano confermate da una review del 2013, che analizzando diversi studi su quest'argomento, concludeva che non vi erano dati sufficienti a dimostrare un effetto chiaro sul metabolismo osseo e tantomeno era possibile ipotizzare un meccanismo d'azione.

Più recentemente in un modello di riparazione tissutale è stata dimostrata un'azione di inibizione della vitalità di una linea cellulare di preosteoblasti murini da parte

dei FANS, indipendentemente dalla specificità, con la riduzione della attivazione dei geni per la produzione di fosfatasi alcalina, Runx2, ed osetocalcina, quest'ultima solo per i COX-1 inibitori (24).

Quest'anno è apparso un interessante studio su culture di osteoclasti attivati con RANKL che ha dimostrato che l'aspirina ha un'azione di inibizione della osteoclastogenesi, forse mediata dalla soppressione dell'attivazione di NF- $\kappa$ B and MAPKs (25).

Nel 2015 è apparso anche uno studio su ratto dove sono stati studiati aspetti istologici e biomeccanici dell'osso dopo una somministrazione prolungata (12 settimane) di celecoxib, confrontato con il desametasone ed il metotrexate. Il celecoxib ha dimostrato stimolare il riassorbimento osseo con una diminuzione della massa ossea ed un deterioramento delle proprietà meccaniche (26).

### ■ DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I dati reperiti in letteratura negli ultimi 20 anni non consentono di porre chiarezza sull'azione dei FANS sul tessuto osseo. Se infatti abbiamo dati sperimentali e clinici su di un possibile effetto positivo sulla massa ossea, (11-14) abbiamo anche dati su di un possibile effetto negativo sul rischio di frattura (18-21). Per entrambi gli effetti, però, abbiamo anche dati neutri (16, 17).

Certamente l'eterogeneità degli studi potrebbe essere una delle cause di questi dati contrastanti, eterogeneità per i diversi FANS studiati, per gli outcome diversi e, ovviamente, per le diverse tipologie di studio. Riguardo a questo aspetto, disponiamo di studi prospettici di numerosità più che sufficiente che attestano sia l'effetto positivo sulla massa ossea (13, 14), che quello negativo sul rischio di frattura, (19) ma anche gli studi retrospettivi poggiano su robuste basi sia per numerosità che per rigore di analisi statistica (17-21).

Per quanto riguarda gli studi sulla massa ossea, vi è anche da osservare la eterogeneità nei sistemi di misurazione e nelle sedi misurate, oltre che l'esiguità delle variazio-

ni di BMD registrate (13, 14). In questi studi viene anche spontaneo osservare come non vi sia concordanza su quali FANS siano più efficaci, infatti, eccetto che per l'aspirina, dove l'effetto di aumento della massa ossea è ben documentato, i FANS più efficaci nell'aumento della BMD sono i COX-1 o i COX2 inibitori a seconda dello studio (13, 14).

Negli studi clinici, un'altra fonte di confusione è la diversa considerazione della dose assunta, in alcuni studi, infatti, vengono considerati utilizzatori di FANS coloro per i quali risultavano almeno 3 prescrizioni nel periodo di osservazione, esteso anche per 10 anni, (17) in altri, per fortuna è stato possibile una correlazione con la dose assunta, scoprendo che l'aumento del rischio di frattura dovuto ai FANS sembra ridursi con l'aumentare della dose prescritta, ma avanzano dubbi per mancanza di dati sulla reale aderenza alla terapia (18).

Se però consideriamo il rischio di frattura negli utilizzatori di FANS, gli studi più robusti per disegno prospettico (19), per numerosità di pazienti (17, 20), o per scelta di analisi statistica (20, 21) consentono di affermare che il rischio di fratture clinicamente evidenti, soprattutto non vertebrali, sia realmente aumentato con un rischio che risulta aumentato, a seconda degli studi, da 1,4 (19) a 2,7 (18).

Solo in alcuni studi abbiamo dati sulla correlazione tra selettività dei FANS e rischio di frattura, ma ancor a una volta non sembrano concordare: se, infatti, nello studio di Vestergaard i FANS con l'OR più elevata sono l'indometacina, il tenoxicam, l'ibuprofene ed il naprossene (tutti prevalentemente COX-1 selettivi) ed il rischio non è

aumentato per il celecoxib (18), nello studio di Chuang il rischio risulta aumentato soprattutto per diclofenac e celecoxib (prevalentemente COX-2 selettivi) nei pazienti anziani (21).

Mentre per i FANS i dati sembrano indicare un effetto contrastante su massa ossea e rischio di frattura, diverso sembra il ruolo dell'ASA, dove gli effetti sembrano concordare, sia in termini di aumento della massa ossea (14) che in termini di assenza di interferenza sul rischio di frattura (18), anche in associazione con altri FANS (14). Riguardo al meccanismo d'azione dei FANS sull'osso sembra esserci ancora molto da chiarire, come, forse, per l'esatto ruolo delle prostaglandine. Sebbene i dati siano frammentati, si può comunque ipotizzare un'azione di inibizione della osteoblastogenesi (23, 24) e forse della osteoclastogenesi (25) da parte dei FANS, proprio per il ruolo bimodale delle prostaglandine nell'osso.

In conclusione, da quanto emerso dalla revisione della letteratura, si può affermare che i FANS, come si ipotizzava negli anni novanta, sembrano interferire con l'osso, con un aumento del rischio di frattura negli utilizzatori cronici, soprattutto se anziani, che potrebbe essere mediato da un deterioramento delle competenze meccaniche per una ridotta osteoblastogenesi (26), piuttosto che per una riduzione della massa ossea, che sembra al contrario poter aumentare con i FANS e con l'aspirina in particolare (15).

Per tali evidenze si ritiene auspicabile una maggiore attenzione nella prescrizione dei FANS negli anziani con altri fattori di rischio per fratture da fragilità.

#### RIASSUNTO

Per i FANS è ipotizzata da tempo una loro azione sull'osso ed il loro ruolo inibitorio nella riparazione delle fratture la conferma, ma controverso è il ruolo nell'osteoporosi.

Dagli anni 90 vari studi dimostravano un effetto positivo sulla massa ossea di FANS e aspirina, ma in studi successivi di vario disegno (da 2.000 a 300.000 soggetti prospettici o retrospettivi) il rischio di frattura risultava aumentato a seconda dei FANS, ma mai con l'aspirina.

Non chiariti sono i meccanismi di azione sull'osso. Sembra che i FANS inibiscano l'osteoblastogenesi, ma anche la osteoclastogenesi, con un deterioramento delle competenze meccaniche, senza riduzione della massa ossea.

## ■ BIBLIOGRAFIA

1. Raisz LG. Physiologic and pathologic roles of prostaglandins and other eicosanoids in bone metabolism. *J Nutr.* 1995; 125: 2024S-2027S.
2. Raisz LG. Prostaglandins and bone: physiology and pathophysiology. *Osteoarthritis Cartilage.* 1999 7: 419-21
3. Raisz LG. Potential impact of selective cyclooxygenase-2 inhibitors on bone metabolism in health and disease. *Am J Med.* 2001; 110: 43S-45S.
4. Allen HL, Wase A, Bear WT. Indomethacin and aspirin: Effect of nonsteroidal anti-inflammatory agents on the rate of fracture repair in the rat. *Acta Orthop Scand.* 1980; 51: 595-600.
5. Törnkvist H, Lindholm TS. Effect of ibuprofen on mass and composition of fracture callus and bone. *Scand J Rheumatol.* 1980; 9: 167-71.
6. Törnkvist H, Bauer FCH, Nilsson OS. Influence of indomethacin on experimental bone metabolism in rats. *Clin Orthop.* 1985; 193: 264-70.
7. Nilsson OS, Bauer HCF, Brosjö O, Törnkvist H. Influence of indomethacin on induced heterotopic bone formation in rats. *Clin Orthop.* 1986; 207: 239-45.
8. Keller J, Bayer-Kristensen I, Bak B, Bünger C, Anderson PK, Lucht U, Melsen F. Indomethacin and bone remodeling effect on cortical bone after osteotomy in rabbits. *Acta Orthop Scand.* 1989; 60: 119-21.
9. Trancik T, Mills W, Vinson N. The effect of indomethacin, aspirin, and ibuprofen on bone ingrowth into a porouscoated implant. *Clin Orthop.* 1989; 249: 113-21.
10. Di Cesare PE, Nimni ME, Peng L, Yazdi M, Cheung DT. Effects of indomethacin on demineralized bone-induced heterotopic ossification in the rat. *J Orthop Res.* 1991; 9: 855-61.
11. Lane NE, Coble T, Kimmel DB. Effect of naproxen on cancellous bone in ovariectomized rats. *J Bone Miner Res.* 1990; 5: 1029-35.
12. Jungkeit MC, Chole RA. Ibuprofen inhibits localized bone resorption in the middle ear. *Calcif Tissue Int.* 1991; 48: 267-71.
13. Morton DJ, Barrett-Connor EL, Schneider DL. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and bone mineral density in older women: The Rancho Bernardo Study. *J Bone Miner Res.* 1998; 13: 1924-31.
14. Carbone LD, Tylavsky FA, Cauley JA, Harris TB, Lang TF, Bauer DC, Barrow KD, Kritchevsky SB. Association between bone mineral density and the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and aspirin: impact of cyclooxygenase selectivity. *J. Bone Miner Res.* 2003; 18: 1795-802.
15. Shi S, Yamaza T, Akiyama K. Is aspirin treatment an appropriate intervention to osteoporosis? *Fut Rheumatol.* 2008; 1; 3: 499-502
16. Bauer DC, Orwoll ES, Fox KM, Vogt TM, Lane NE, Hochberg MC, Stone K, Nevitt MC. Aspirin and NSAID Use in Older Women: Effect on Bone Mineral Density and Fracture Risk. *J Bone Miner Res.* 1996; 11: 29-35.
17. van Staa TP, Leufkens HG, Cooper C. Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of fractures. *Bone.* 2000; 27: 563-8.
18. Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Fracture risk associated with use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, acetylsalicylic acid, and acetaminophen and the effects of rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Calcif Tissue Int.* 2006; 79: 84-94.
19. P. Vestergaard & P. Hermann & J.-E. B. Jensen & P. Eiken & L. Mosekilde. Effects of paracetamol, non-steroidal anti-inflammatory drugs, acetylsalicylic acid, and opioids on bone mineral density and risk of fracture: results of the Danish Osteoporosis Prevention Study (DOPS) *Osteoporos Int.* 2012; 23: 1255-65
20. Huang KC, Huang TW, Yang TY, Lee MS. Chronic NSAIDs Use Increases the Risk of a Second Hip Fracture in Patients After Hip Fracture Surgery: Evidence From a STROBE-Compliant Population-Based Study. *Medicine.* 2015; 94: 1-7.
21. Chuang PY, Shen SH, Yang TY, Huang TW, Huang KC. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and the risk of a second hip fracture: a propensity-score matching study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016; 17: 201-8.
22. Fracon RN, Teófilo JM, Satin RB, Lamano T. Prostaglandins and bone: potential risks and benefits related to the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in clinical dentistry. *J Oral Sci.* 2008; 50: 247-52.
23. Ho ML, Chang JK, Chuang LY, Hsu HK, Wang GJ. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and prostaglandins on osteoblastic functions. *Biochem Pharmacol.* 1999; 58: 983-90.
24. Schwarting T, Pretzsch S, Debus F, Ruchholtz S, Lechler P. The Effect of Cyclooxygenase Inhibition on Tendon-Bone Healing in an In Vitro Coculture Model. *Mediators Inflamm.* 2015; 926369.
25. Zeng YP, Yang C, Li Y, Fan Y, Yang HJ, Liu B, Sang HX. Aspirin inhibits osteoclastogenesis by suppressing the activation of NF- $\kappa$ B and MAPKs in RANKL-induced RAW264.7 cells. *Mol Med Rep.* 2016; 14: 1957-62.
26. Liu Y, Cui Y, Chen Y, Gao X, Su Y, Cui L. Effects of dexamethasone, celecoxib, and methotrexate on the histology and metabolism of bone tissue in healthy sprague Dawley rats. *Clinical Interventions in Aging.* 2015; 10: 1245-53.

# Farmaci antiretrovirali

## Antiretroviral drugs

C. Cipriani

Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche, Università di Roma "Sapienza"

### SUMMARY

The use of antiretroviral therapy (ART) in patients with HIV infection has been associated with an overall increased morbidity. In particular, the initiation of ART is associated with a 2 to 6% reduction in bone mineral density (BMD) and increase in the risk for fragility fractures. The use of algorithms for fracture risk calculation, as the Fracture Risk Assessment Tool (FRAX) is therefore recommended in HIV patients on ART 40-49 year-old, while BMD should be measured in postmenopausal women and men > 50 or in patients with elevated fracture risk. As far as ART, the guidelines for HIV therapy should be followed, and alternative regimes are recommended in patients with high fracture risk and in accordance with the antiviral efficacy of the drugs. In particular, tenofovir or protease inhibitors (PI) should be avoided in naïve patients or the switch to other classes of drugs should be pursued in patients on tenofovir or PI. The two classes of antiretrovirals are associated indeed with higher reduction in BMD compared to other nucleoside reverse-transcriptase inhibitors.

Hypovitaminosis D is also a common finding in patients on ART. Vitamin D supplementation is recommended in order to obtain serum 25-hydroxy-vitamin D levels > 30 ng/ml.

As far as osteoporosis drugs, bisphosphonates (alendronate, risedronate and zoledronic acid) should be initiated in patients with high fracture risk and studies reported the efficacy in increasing BMD, but no data are available on the anti-fracture efficacy. Finally, no RCTs have been performed with denosumab and teriparatide in HIV patients on ART.

Reumatismo, 2016; 68 (S3): 67-72

È noto come l'utilizzo dei farmaci antiretrovirali (ART) nella terapia dell'infezione da HIV abbia cambiato significativamente la storia naturale della malattia. Numerosi studi, così come la comune pratica clinica, hanno dimostrato come tali farmaci siano associati allo sviluppo di diverse condizioni morbose croniche, tra cui l'osteoporosi. L'inizio della terapia ART è associato ad una riduzione della densità minerale ossea variabile dal 2 al 6%, in relazione al farmaco utilizzato e ad un'elevata prevalenza di osteopenia e osteoporosi (rispettivamente 52-61% e 6-19,5% dei pazienti a seconda delle casistiche) (1-5). In particolare, la densità minerale ossea si riduce a livello della colonna lombare e del femore nei primi 6-12 mesi dall'inizio della terapia, mentre successivamente essa si stabilizza o può aumentare (3, 6). Tale dato, in associazione all'aumentato rischio di osteoporosi legato all'infezione

stessa, nonché all'età avanzata, espone i pazienti ad un aumentato rischio di fratture ed altre comorbidità (1-7). Gli studi che abbiano indagato la prevalenza di fratture osteoporotiche nei pazienti con HIV hanno mostrato un aumento significativo nell'era della terapia ART rispetto all'era pre-ART (4,09/1000 pazienti/anno vs 1,61/1000 pazienti/anno) (8). Yin et al. hanno riportato una maggiore incidenza di fratture nei primi 2 anni dall'inizio della terapia ART (9). Per ciò che concerne le fratture vertebrali subcliniche, valutate tramite esame morfometrico, la prevalenza nei pazienti con HIV riportata in letteratura oscilla tra 23,3% e 26,9%, con una frequenza maggiore nei pazienti in terapia ART (10, 11). Nella nostra casistica di uomini affetti da HIV in terapia ART tale prevalenza è risultata del 15,8% dei pazienti, significativamente superiore rispetto ad una popolazione sana di controllo HIV negativa (12). Tali osservazio-

Indirizzo per la corrispondenza:  
C. Cipriani  
E-mail: cristiana.cipriani@gmail.com

ni hanno reso necessario negli ultimi anni definire alcune linee guida relative allo screening, il monitoraggio e il trattamento dei pazienti con HIV per ciò che concerne le complicanze scheletriche della malattia e della terapia (1). L'utilizzo di algoritmi di valutazione del rischio fratturativo quali il Fracture Risk Assessment Tool (FRAX) viene dunque raccomandato nei pazienti tra i 40 e 49 anni, in associazione alla misurazione della densità minerale ossea nelle donne in postmenopausa, negli uomini al di sopra dei 50 anni o nei pazienti con rischio elevato di frattura (1). La raccomandazione generale è di seguire le linee guida relative alla ART, poiché i benefici della terapia risultano essere largamente superiori ai rischi a lungo termine legati alle complicanze scheletriche e metaboliche (1). Gli "aggiustamenti" terapeutici in questo senso sono infatti comunemente raccomandati nei pazienti (sia naive che già in terapia) che presentino una condizione di osteoporosi o ridotta massa ossea in associazione ad aumento del rischio di frattura (1). In particolare, viene raccomandato di evitare di iniziare la terapia con tenofovir o inibitori della proteasi nei pazienti naive o di passare ad altro regime terapeutico nei pazienti già in trattamento (1). Tali raccomandazioni derivano dalle numerose evidenze che hanno dimostrato, negli ultimi anni, come tenofovir e inibitori delle proteasi siano associati ad una riduzione della densità minerale ossea maggiore rispetto ad altri inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa, quali abacavir/lamivudina o al raltegravir (1, 13, 14). L'effetto del tenofovir a livello scheletrico è stato associato ad un'azione diretta a livello degli osteoblasti, con alterazione dell'espressione di geni deputati alla funzione di tali cellule e quindi riduzione dei meccanismi di formazione ossea (14).

Studi in vitro hanno infatti dimostrato, utilizzando le tecniche di micro-array, che l'espressione dei geni deputati ai meccanismi di crescita, attivazione e differenziazione viene alterata in osteoblasti trattati con tenofovir (15). Inoltre, il trattamento con tenofovir è stato associato all'aumento della secrezione di paratormone (PTH), aumento

dei markers del turnover scheletrico e disfunzione tubulare (16-18). In particolare, recenti evidenze hanno dimostrato come il cronico aumento dell'escrezione urinaria di fosforo sia associato alla riduzione progressiva della massa ossea in pazienti in terapia con tenofovir, suggerendo quindi come l'osteomalacia e l'ipofosforemia rappresentino meccanismi chiave nel determinare l'effetto scheletrico del tenofovir (18). Per ciò che concerne le fratture, i dati in letteratura sono discordanti (8, 19). Tenofovir ha mostrato un'associazione significativa con il rischio fratturativo in uno studio che ha coinvolto 56.660 pazienti con HIV seguiti per una media di 5,4 anni, anche correggendo per i fattori di rischio tradizionali per frattura (8). Al contrario, una recente revisione sistematica e meta-analisi di 22 trials randomizzati controllati (RCTs) non ha mostrato alcuna differenza significativa in termini di frequenza di fratture tra il gruppo di pazienti in trattamento con tenofovir ed il gruppo che non assumeva tenofovir (19).

Tra i diversi studi *head-to-head* che negli ultimi anni hanno indagato possibili terapie alternative atte a ridurre il rischio di osteoporosi nei pazienti con HIV, i dati derivanti dallo studio SINGLE hanno dimostrato come vi sia un aumento significativamente maggiore dei markers del turnover scheletrico, in particolare nelle prime 48 settimane, nei pazienti in terapia con efavirenz/emtricitabine/tenofovir vs dolutegravir + abacavir/lamivudina (17). Analoghi risultati in termini di aumento dei markers del turnover e riduzione della densità minerale ossea sono riportati nello studio di confronto tra raltegravir + darunavir vs tenofovir/emtricitabine + darunavir, in cui la terapia di associazione con tenofovir ha però mostrato una superiorità a 48 settimane dal punto di vista dell'azione anti-virale (20). Dati più recenti riguardano il maraviroc, un antagonista del recettore leucocitario CCR5, indicato in pazienti adulti già trattati e che presentino un'infezione documentata causata solo dal virus HIV-1 CCR5-tropico (21). Taiwo et al. hanno infatti dimostrato come la riduzione della densità minerale ossea a livello della colonna e del collo del

femore siano inferiori nel gruppo di pazienti in terapia di associazione con maraviroc vs tenofovir (21). Tali regimi terapeutici "alternativi" non vengono attualmente raccomandati come terapia di prima linea, ma piuttosto in pazienti in cui tenofovir e abacavir siano controindicati (1).

Gli inibitori delle proteasi agiscono a livello scheletrico tramite meccanismi diretti, quali inibizione dell'osteoblastogenesi (indinavir) e aumento dell'attività osteoclastica (ritonavir, saquinavir, nelfinavir, indinavir) ed indiretti, quali l'inibizione dell'enzima 1- $\alpha$ -idrossilasi con conseguente ridotta formazione del metabolita attivo della vitamina D, la 1,25(OH)<sub>2</sub>D e conseguente aumento dei livelli di PTH (indinavir, nelfinavir, ritonavir) (14, 22). L'ipovitaminosi D, sia in termini di insufficienza [livelli sierici di 25(OH)D tra 20-30 ng/ml] che di carenza (15-29 ng/ml) (22), è molto frequente nei pazienti con HIV e la prevalenza di tale disturbo è ancora maggiore nei pazienti in terapia ART (23-26). Nella coorte di pazienti con HIV studiata da Vescini et al. è stata riportata una prevalenza di pazienti con livelli sierici di 25(OH)D al di sotto di 75 nmol/l (30 ng/ml) del 53% (24). In particolare, il 62,7% dei pazienti tra 65 e 97 anni e il 56% dei soggetti di età compresa tra 36 e 50 anni presentava una condizione di insufficienza/carenza vitaminica, indicando dunque come tale condizione sia molto frequente nei pazienti con HIV anche in età giovane adulta ed anche in misura maggiore a quanto riportato nella popolazione generale HIV negativa (24). Inoltre, vi era una sostanziale tendenza alla riduzione dei livelli sierici di vitamina D dopo inizio della terapia ART (24). A tal proposito, non solo gli inibitori della proteasi, ma anche il tenofovir e gli inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa, quali l'efavirenz, sono associati al deficit vitaminico (23-26). In particolare, l'efavirenz, agisce stimolando la 24-idrossilasi, l'enzima che degrada la 25(OH)D nel metabolita inattivo 24,25(OH)<sub>2</sub>D e inibendo la 25-idrossilasi, che converte la vitamina D<sub>2</sub> o D<sub>3</sub> in 25(OH)D (25, 26).

Per ciò che concerne la supplementazione con vitamina D, essa viene raccomandata

al fine di ottenere livelli sierici di 25(OH)D al di sopra di 30 ng/ml (1). A tale scopo, le dosi raccomandate sono tra 1.000 e 2.000 UI/die di vitamina D con diversi schemi di somministrazione a seconda del livello di deficit vitaminico (1). La somministrazione di dosi di carico di colecalciferolo (vitamina D<sub>3</sub>) è stata associata ad un aumento rapido dei livelli sierici di 25(OH)D e 1,25(OH)<sub>2</sub>D e riduzione dei livelli di PTH in donne in postmenopausa con HIV, nonché ad una riduzione dei markers del turnover scheletrico e rappresenta dunque una valida alternativa terapeutica, in particolare nei pazienti con grave carenza vitaminica (1, 29, 30). In tali casi le dosi di carico attualmente raccomandate dalle linee guida sono pari a 50.000 UI a settimana (6.000 UI/die) per 8 settimane (1).

Nei pazienti con HIV e osteoporosi o ad elevato rischio di frattura sono inoltre indicate le comuni raccomandazioni relative allo stile di vita, l'attività fisica e il corretto apporto di calcio con la dieta (1). La terapia con farmaci attivi a livello scheletrico è indicata nei pazienti con HIV in modo analogo a quanto raccomandato nella popolazione generale affetta da osteoporosi e/o rischio aumentato di frattura (1). In particolare, i bisfosfonati alendronato e zoledronato sono attualmente inclusi nelle raccomandazioni per il trattamento dell'osteoporosi nei pazienti con HIV (1). Gli studi hanno infatti dimostrato come la terapia con alendronato in donne e uomini con HIV e osteoporosi determini un aumento dei valori di densità minerale ossea (31-33), unitamente ad una riduzione dei markers del turnover scheletrico (33). L'infusione annuale di zoledronato (5 mg) rappresenta un'ottima strategia terapeutica al fine di aumentare la compliance in pazienti sottoposti già a politerapia (34). I trials clinici hanno dimostrato l'efficacia e la sicurezza dello zoledronato nell'aumentare la densità minerale ossea nei pazienti con HIV rispetto al placebo anche a dosi inferiori (4 mg o 5 mg ogni due anni) (35-37). Tra i bisfosfonati, anche il risedronato ha mostrato una buona efficacia nell'aumentare la densità minerale ossea e ridurre i markers del turnover scheletrico in uomini

con HIV in terapia ART e osteoporosi (38). Non ci sono però al momento attuale dati relativi all'efficacia anti-fratturativa dei bisfosfonati nei pazienti con HIV.

Non vi sono ancora RCTs sull'utilizzo del denosumab nei pazienti con HIV e la principale preoccupazione riguarda il potenziale rischio infettivo associato alla somministrazione del farmaco. Infine, l'utilizzo del teriparatide è riportato in un case report dimostrando effetti significativi in termini di aumento della BMD e assenza di effetti collaterali (39). Non ci sono però al momento dati da RCTs che abbiano valutato l'efficacia e la sicurezza del teriparatide.

In conclusione, diversi farmaci antiretrovirali sono stati associati ad una riduzione della massa ossea, in particolare nelle fasi iniziali della terapia, con aumento del rischio di fratture. Tale dato va preso in considerazione in particolare nelle pazienti in terapia ART in postmenopausa e negli uomini al di sopra dei 50 anni, in cui un assessment del rischio fratturativo, comprendente anche la misurazione della densità minerale ossea, va eseguito di routine.

Nei pazienti a rischio elevato è indicata la valutazione di possibili terapie alternative al tenofovir e agli inibitori delle proteasi, nonché la terapia con bisfosfonati. Infine, è necessario iniziare una supplementazione con colecalciferolo secondo gli schemi consigliati dalle linee guida, vista l'elevata prevalenza di ipovitaminosi D. Dati relativi all'efficacia anti-fratturativa dei farmaci comunemente usati nella terapia dell'osteoporosi, nonché studi sulla possibile efficacia della terapia osteoanabolica rappresentano al momento attuale gli spunti più interessanti per ciò che concerne la terapia dell'osteoporosi nei pazienti in terapia ART. Per quanto riguarda quest'ultima, la valutazione del rapporto tra efficacia anti-virale ed effetti scheletrici dei diversi regimi di trattamento, utilizzando come endpoints principali la densità minerale ossea e l'insorgenza di fratture (cliniche e subcliniche) e la definizione di regimi terapeutici alternativi rappresentano lo scenario principale degli studi futuri al fine di ridurre il rischio di osteoporosi nei pazienti con HIV.

#### RIASSUNTO

Diversi antiretrovirali sono associati a una riduzione della massa ossea e aumento del rischio di fratture. La densità minerale ossea va misurata nelle donne in menopausa, negli uomini > 50 anni e nei pazienti con rischio fratturativo elevato. In questi ultimi, vanno valutate possibili terapie alternative a tenofovir e inibitori delle proteasi, considerando sempre come endpoint primario l'efficacia antivirale dei farmaci. La vitamina D e i bisfosfonati sono raccomandati nei pazienti con osteoporosi. Dati sull'efficacia anti-fratturativa di tali farmaci e studi sugli antiretrovirali finalizzati a ridurre la discrepanza tra efficacia anti-virale ed effetti scheletrici rappresentano spunti molto interessanti per gli studi futuri.

#### ■ BIBLIOGRAFIA

1. Brown TT, Hoy J, Borderi M, Guaraldi G, Renjifo B, Vescini F, et al. Recommendations for evaluation and management of bone disease in HIV. *Clin Infect Dis*. 2015; 60: 1242-51.
2. Brown TT, Qaquish RB. Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: a meta-analytic review. *AIDS*. 2006; 20: 2165-74.
3. Rey D, Treger M, Sibia J, Priester M, Bernard-Henry C, Cheneau C, et al. Bone mineral density changes after 2 years of ARV treatment, compared to naive HIV-1-infected patients not on HAART. *Infect Dis (Lond)*. 2015; 47: 88-95.
4. Cazanave C, Dupon M, Lavignolle-Aurillac V, Barthe N, Lawson-Ayayi S, Mehsen N, et al. Reduced bone mineral density in HIV-infected patients: prevalence and associated factors. *AIDS*. 2008; 22: 395-402.
5. Grijnsen ML, V roeuenaets S ME, Steingrover R, Lips P, Reiss P, Wit FW, et al. High prevalence of reduced bone mineral density in primary HIV-1-infected men. *AIDS*. 2010; 24: 2233-8.
6. Bolland MJ, Wang TK, Grey A, Gamble GD, Reid IR. Stable bone density in HAART-treated individuals with HIV: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96: 2721-31.
7. Borderi M, Gibellini D, Vescini F, De Cignis E, Cimatti L, Biagetti C, et al. Metabolic

- bone disease in HIV infection. *AIDS*. 2009; 23:1297-310.
8. Bedimo R, Maalouf NM, Zhang S, Drechsler H, Tebas P. Osteoporotic fracture risk associated with cumulative exposure to tenofovir and other antiretroviral agents. *AIDS*. 2012; 26: 825-31.
  9. Yin MT, Kendall MA, Wu X, Tassiopoulos K, Hochberg M, Huang JS, et al. Fractures after antiretroviral initiation. *AIDS*. 2012; 26: 2175-84.
  10. Borderi M, Calza L, Colangeli V, Vanino E, Viale P, Gibellini D, et al. Prevalence of sub-clinical vertebral fractures in HIV-infected patients. *New Microbiol*. 2014; 37: 25-32.
  11. Torti C, Mazziotti G, Soldini PA, Focà E, Maroldi R, Gotti D, et al. High prevalence of radiological vertebral fractures in HIV-infected males. *Endocrine*. 2012; 41: 512-17.
  12. Pepe J, Isidori AM, Falciano M, Iaiani G, Salotti A, Diacinti D, et al. The combination of FRAX and Ageing Male Symptoms scale better identifies treated HIV males at risk for major fracture. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2012; 77: 672-8.
  13. Jourjy J, Dahl K, Huesgen E. Antiretroviral treatment efficacy and safety in older HIV-infected adults. *Pharmacotherapy*. 2015; 35: 1140-51.
  14. Madeddu G, Spanu A, Solinas P, Babudieri S, Calia GM, Lovigu C, et al. Different impact of NNRTI and PI-including HAART on bone mineral density loss in HIV-infected patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015; 19: 4576-89.
  15. Grigsby IF, Pham L, Mansky LM, Gopalakrishnan R, Carlson AE, Mansky KC. Tenofovir treatment of primary osteoblasts alters gene expression profiles: implications for bone mineral density loss. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010; 394: 48-53.
  16. Masia M, Padilla S, Robledano C, Lopez N, Ramos JM, Gutierrez F. Early changes in parathyroid hormone concentrations in HIV-infected patients initiating antiretroviral therapy with tenofovir. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2012; 28: 242-246.
  17. Tebas P, Kumar P, Hicks C, Granier C, Wynne B, Min S, et al. Greater change in bone turnover markers for efavirenz/emtricitabine/tenofovir disoproxil fumarate versus dolutegravir + abacavir/lamivudine in antiretroviral therapy-naïve adults over 144 weeks. *AIDS*. 2015; 29: 2459-64.
  18. Casado JL, Santiuste C, Vazquez M, Bañón S, Rosillo M, Gomez A et al. Bone mineral density decline according to renal tubular dysfunction and phosphaturia in tenofovir-exposed HIV-infected patients. *AIDS*. 2016; 30: 1423-31.
  19. Hemkens LG, Ewald H, Santini-Oliveira M, Bühler JE, Vuichard D, Schandelmaier S et al. Comparative effectiveness of tenofovir in treatment-naïve HIV-infected patients: systematic review and meta-analysis. *HIV Clin Trials*. 2015; 16: 178-89.
  20. Bedimo RJ, Drechsler H, Jain M, Cutrell J, Zhang S, Li X, et al. The RADAR study: week 48 safety and efficacy of Raltegravir combined with boosted Darunavir compared to tenofovir/emtricitabine combined with boosted darunavir in antiretroviral-naïve patients. Impact on bone health. *PLoS One*. 2014; 9: e106221.
  21. Taiwo BO, Chan ES, Fichtenbaum CJ, Ribaud H, Tsibris A, Klingman KL et al. Less Bone Loss With Maraviroc- Versus Tenofovir-Containing Antiretroviral Therapy in the AIDS Clinical Trials Group A5303 Study. *Clin Infect Dis*. 2015; 61: 1179-88.
  22. Adami SE, Romagnoli E, Carnevale E, Scillitani A, Giusti A, Rossini M et al. Linee guida su prevenzione e trattamento dell'ipovitaminosi D con colecalciferolo. *Reumatismo*, 2011; 63: 129-47.
  23. Pan G, Yang Z, Ballinger SW, McDonald JM. Pathogenesis of osteopenia/osteoporosis induced by highly active anti-retroviral therapy for AIDS. *Ann NY Acad Sci*. 2006; 1068: 297-308.
  24. Vescini F, Cozzi-Lepri A, Borderi M, Re MC, Maggiolo F, De Luca A, et al. Prevalence of hypovitaminosis D and factors associated with vitamin D deficiency and morbidity among HIV-infected patients enrolled in a large Italian cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011; 58: 163-72.
  25. Moran CA, Weitzmann MN, Ofotokun I. The protease inhibitors and HIV-associated bone loss. *Curr Opin HIV AIDS*. 2016; 11: 333-42.
  26. Cervero M, Agud JL, García-Lacalle C, Alcázar V, Torres R, Jusdado JJ, et al. Prevalence of vitamin D deficiency and its related risk factor in a Spanish cohort of adult HIV-infected patients: effects of antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2012; 28: 963-71.
  27. Brown TT, Mccomsey GA. Association between initiation of antiretroviral therapy with efavirenz and decreases in 25-hydroxyvitamin D. *Antivir. Ther*. 2010; 15: 425-29.
  28. Welz T, Childs K, Ibrahim F, Poulton M, Taylor CB, Moniz CF, Post FA. Efavirenz is associated with severe vitamin D deficiency and increased alkaline phosphatase. *AIDS*. 2010; 24: 1923-28.
  29. Pepe J, Mezzaroma I, Fantauzzi A, Falciano M, Salotti A, Di Traglia M et al. An oral high dose of cholecalciferol restores vitamin D status in deficient postmenopausal HIV-1-infected women independently of protease inhibitors therapy: a pilot study. *Endocrine*. 2016; 53: 299-304.
  30. Piso RJ, Rothen M, Rothen JP, Stahl M, Fux C. Per oral substitution with 300000 IU vitamin D (Cholecalciferol) reduces bone turn-

- over markers in HIV-infected patients. *BMC Infect. Dis.* 2013; 13: 577.
31. Mondy K, Powderly WG, Claxton SA, Yarasheski KH, Royal M, Stoneman JS et al. Alendronate, vitamin D, and calcium for the treatment of osteopenia/osteoporosis associated with HIV infection. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 2005; 38: 426-31.
  32. McComsey GA, Kendall MA, Tebas P, Swindells S, Hogg E, Alston-Smith B, et al. Alendronate with calcium and vitamin D supplementation is safe and effective for the treatment of decreased bone mineral density in HIV. *AIDS.* 2007; 21: 2473-82.
  33. Guaraldi G, Orlando G, Madeddu G, Vescini F, Ventura P, Campostrini S. et al. Alendronate reduces bone resorption in HIV-associated osteopenia/ osteoporosis. *HIV Clin. Trials.* 2004; 5: 269-77.
  34. Vescini F, Grimaldi F. Bisphosphonates in the treatment of HIV-related osteoporosis. *Endocrine.* 2015; 48: 358-9.
  35. Bolland MJ, Grey AB, Horne AM, Briggs SE, Thomas MG, Ellis-Pegler RB et al. Annual zoledronate increases bone density in highly active antiretroviral therapy-treated human immunodeficiency virus infected men: a randomized controlled trial. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007; 92: 1283-88.
  36. Bolland MJ, Grey A, Horne AM, Briggs SE, Thomas MG, Ellis-Pegler RB et al. Effects of intravenous zoledronate on bone turnover and bone density persist for at least five years in HIV-infected men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012; 97: 1922-28.
  37. Negredo E, Bonjoch A, Pérez-Álvarez N, Ornelas A, Puig J, Herrero C et al. Comparison of two different strategies of treatment with zoledronate in HIV-infected patients with low bone mineral density: single dose versus two doses in 2 years. *HIV Med.* 2015; 16: 441-8.
  38. Pepe J, Isidori AM, Falciano M, Iaiani G, Sallotti A, Diacinti D et al. Effect of risedronate in osteoporotic HIV males, according to gonadal status: a pilot study. *Endocrine.* 2014; 47: 456-62.
  39. Wheeler AL, Tien PC, Grunfeld C, Schafer AL. Teriparatide treatment of osteoporosis in an HIV-infected man: a case report and literature review. *AIDS.* 2015; 29: 245-6.

# Farmaci ipoglicemizzanti

## Antidiabetic agents

A. Palermo<sup>1</sup> MD, PhD, G. Tabacco<sup>1</sup> MD; A. Naciu<sup>1</sup> MD; L. D'Onofrio<sup>2</sup> MD

<sup>1</sup>Area di Endocrinologia e Diabete, Università Campus Bio-Medico di Roma;

<sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Sperimentale, "Sapienza" Università di Roma

### SUMMARY

It has been well demonstrated that diabetes negatively affects bone health. Many conditions such as high risk of falls, diabetic collagenopathy, obesity can justify the high risk of fractures in subjects with type 1 and type 2 diabetes. Moreover, many oral anti-diabetic drugs have different effects on bone metabolism. In particular, although metformin seems to enhance the osteoblast activity in pre-clinical studies, the available clinical data do not confirm its protective role; only a few preclinical and clinical studies have investigated the effects of sulfonylureas, dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and GLP-1 analogues on bone and they do not appear to have a negative effect on bone health; a lot of preclinical and clinical data have confirmed the association between TZDs use and increase risk of fracture, in particular in post-menopausal women with longer exposure duration. Recent evidence have shown that the sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors might increase the risk of fractures in type 2 subjects. The aim of this review is to evaluate the effects of the oral anti-diabetic drugs on fracture risk.

Reumatismo, 2016; 68 (S3): 73-91

### ■ INTRODUZIONE

Per ragioni differenti, il diabete mellito tipo 1 e il diabete mellito tipo 2 costituiscono un importante fattore di rischio per le fratture ossee da fragilità. In particolare, il diabete mellito tipo 2 è caratterizzato da una ridotta resistenza ossea, pur presentando valori di massa ossea normali o lievemente aumentati. Diverse classi farmacologiche sono disponibili per il raggiungimento di un buon controllo glicemico e ciascuna di esse ha diversi effetti sul metabolismo osseo. Questa review si propone l'obiettivo di descrivere gli effetti dei principali agenti ipoglicemizzanti orali (metformina, sulfaniluree, tiazolidindioni, inibitori della dipeptil-peptidasi 4, analoghi del glucagon-like peptide-1 e inibitori del co-transportatore sodio-glucosio di tipo 2) sul metabolismo osseo e sul rischio di sviluppare fratture da fragilità.

### ■ METFORMINA

La metformina è riconosciuta a livello mondiale come terapia di prima linea nel

trattamento del diabete mellito di tipo 2. Diversi studi hanno indagato gli effetti della metformina sulla "bone health" ottenendo risultati contraddittori.

#### Studi preclinici

##### Formazione ossea

Molti studi hanno evidenziato il potenziale ruolo anabolizzante della metformina a livello osseo. Di seguito le maggiori evidenze *in vitro* a favore dell'uso della metformina in termini di stimolo all'attività neo-formativa ossea:

- Incremento in maniera dose-dipendente della proliferazione delle cellule osteoblast-like (MC3T3E1) e promozione della differenziazione osteoblastica (1).
- Potenziamiento dell'espressione del collagene I e dell'osteocalcina (OC) modulando positivamente il fenomeno della mineralizzazione a livello cellulare (2).
- Stimolo della differenziazione delle cellule osteoblastiche e della sintesi della matrice ossea, attraverso l'attivazione di adenosina 5-monofosfato-activated protein chinasi (AMPK) e l'espressio-

Indirizzo per la corrispondenza:  
Andrea Palermo, MD  
E-mail: a.palermo@unicampus.it

ne della proteina ossea morfogenetica-2 (BMP-2) (2).

- Potenziamento dell'espressione di Runx2 (fattore di trascrizione Runt-related 2) (3) e dell'Insulin grow factor-1 (IGF-1) (4).
- Potenziamento dell'attività della fosfatasi alcalina (ALP), aumento della deposizione di calcio e del numero di noduli di mineralizzazione formati nei osteoblasti primari di ratto al punto da contrastare gli effetti negativi di alti livelli di glucosio sulla funzione degli osteoblasti (4).
- Stimolo alla differenziazione delle cellule mesenchimali progenitori del midollo osseo (BMPCs) verso la linea degli osteoblasti (5).
- La metformina impedisce alterazioni indotte degli AGE nelle cellule osteoblastiche (UMR106 e MC3T3E1) (6) e inibisce la formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e l'apoptosi nelle colture osteoblastiche esposte a concentrazioni elevate di glucosio (4).

Diversi studi condotti in vivo su modelli animali hanno inoltre dimostrato che la metformina migliora la struttura ossea in ratti ovariectomizzati (OVX) tramite la modulazione positiva di fattori di trascrizione di natura pro-osteoblastica (7). Un altro studio condotto in vivo sui ratti ha dimostrato che la metformina aumenta la densità minerale ossea della zona trabecolare a livello metafisario, la densità cellulare osteoblastica ed osteocitaria, e l'attività della fosfatasi acida tartrato resistente (TRAP) che è associate positivamente con la crescita della cartilagine epifisaria (8). Inoltre, un aumento della densità minerale ossea, del volume dell'osso trabecolare e della "Mineral apposition rate" è stato osservato nei topi insulino-resistenti dopo la somministrazione di metformina (9). Infine, un recente studio condotto in vitro ed in vivo su modelli murini ha dimostrato che il trattamento con metformina può impedire la diminuzione dell'area trabecolare, la riduzione della densità di osteociti, e la riduzione del TRAP indotta dall'iper-glicemia (10). Infatti, la metformina sembra modulare positivamente il rapporto

Runx2/PPAR $\gamma$  in favore della formazione ossea (10).

Un certo numero di studi preclinici non sono riusciti a confermare, o hanno addirittura smentito, il ruolo anabolizzante della metformina a livello osseo. Di seguito le evidenze più significative a favore di questa tesi:

- Kasai et al. hanno dimostrato che la mineralizzazione della matrice delle cellule MC3T3E1, e l'espressione genica di Runx2, OC, sialoproteina ossea e osteopontina sono inibiti dall'utilizzo della metformina (11).
- Salai et al. hanno osservato che la metformina ha inibito la mineralizzazione cellulare sulla linea di cellule SaOS-2 (12).

#### *Riassorbimento osseo*

Esistono studi prevalentemente di natura preclinica che mostrano risultati contrastanti in merito all'impatto della metformina sul riassorbimento osseo. Alcuni studi hanno dimostrato che la metformina riduce il tasso di riassorbimento osseo mediante la modulazione dell'interazione RANK/RANKL/osteoprotegerina. In particolare, è stata dimostrata la stimolazione di OPG e riduzione di RANKL con conseguente aumento della BMD (13, 14).

Al contrario, un certo numero di studi condotti in vitro ed uno condotto in vivo su modelli animali hanno evidenziato un effetto neutro della metformina sui marcatori di riassorbimento osseo (15-17).

#### **Studi clinici**

##### *Effetti sui marcatori del turnover osseo nell'uomo*

Zinman et al. hanno indagato i cambiamenti sui marcatori del turnover osseo analizzando 1605 pazienti arruolati nello studio A Diabetes Outcome Progression Trial (ADOPT) valutati al basale e dopo 12 mesi di trattamento con metformina o rosiglitazone (ROSI). Nelle donne trattate con metformina è stato evidenziato un leggero aumento del telopeptide C-terminale del collagene di tipo I (CTX). Nessuna differenza significativa è stata osservata negli uomini. La metformina è stata invece in grado di determinare una riduzione si-

gnificativa dei marcatori di neoformazione ossea quali P1NP e ALP (sia uomini che donne). La metformina è stata anche associata ad una diminuzione dei livelli di paratormone (PTH) nel siero (18).

Tuttavia, un recente studio non ha rilevato alcun effetto sui livelli dei marcatori ossei ALP, OC, e deossipiridinolina urinario (uDPD) in 20 donne in postmenopausa affette da diabete di tipo 2 trattate con metformina per 12 settimane (19).

#### *Effetti sul rischio di fratture*

Studi osservazionali hanno riportato una riduzione del rischio di fratture nei pazienti trattati con metformina. Ecco le evidenze più significative in merito:

- Uno degli studi caso-controllo di più grandi dimensioni (età media 43±27 anni; 41,8% donne), condotto da Vestergaard et al., ha rilevato che il trattamento con metformina è stato associato ad un ridotto rischio di fratture (HR 0,81; 95% CI, 0,70-0,93) (20);
- uno studio storico di coorte che coinvolge 1.964 diabetici di tipo 2 (età media 61,7±14,0 anni; 49% donne) ha trovato che il trattamento con biguanide era protettivo contro il rischio di frattura, anche dopo aggiustamento per altri fattori di rischio (HR 0,70; 95% CI, 0,6-0,96) (21).
- In una coorte di pazienti con quasi 30.000 anziani con diabete di tipo 2 che sono stati seguiti per circa 10 mesi, i tassi di fratture per le donne (età media 76±7 anni) con metformina (19,7 per 1.000 persone-anno) sono stati inferiori a quelli per le donne (media età 77±7 anni) in trattamento con tiazolidinedione (TZD) (28,7 per 1.000 persone-anno) (22).

Esistono anche delle evidenze di mancato effetto protettivo della metformina nei confronti del rischio di fratture da fragilità:

- In uno studio in cui diversi trattamenti per diabete di tipo 2 sono stati confrontati in pazienti giapponesi (494 uomini: età media 60,1 anni; 344 donne in postmenopausa: età media 67,2 anni), la metformina non è stata associata ad una significativa diminuzione del ri-

schio di fratture negli uomini o donne in post-menopausa, e una significativa riduzione del telopeptide crosslinked N-terminale urinario del collagene di tipo I (u-NTX) è stata osservata nelle donne in post-menopausa (23).

- in uno studio di coorte che ha coinvolto 200.000 pazienti scozzesi con diabete di tipo 2 (età media 65 anni; 47% donne) che sono stati seguiti per 9 anni, non c'era alcuna associazione tra la frattura dell'anca e l'esposizione cumulativa a metformina (24);
- In uno studio caso-controllo più piccolo inserito all'interno di una coorte di 1.945 pazienti ambulatoriali diabetici italiani (4 anni di follow-up), nessuna associazione significativa è stata trovata tra le fratture ossee e il trattamento con metformina (soggetti caso n=83, età media 70±11 anni; 63,8% donne) (25).
- Recentemente i dati dello studio sulle fratture osteoporotiche negli uomini (MrOS) hanno dimostrato che l'uso di metformina negli uomini con diabete di tipo 2 (età ≥65 anni) non ha influenzato il rischio di fratture ossee (26).

Un cenno a parte merita lo studio "A Diabetes Outcome Progression Trial (ADOPT)": studio randomizzato, disegnato per confrontare la metformina con altri trattamenti per il controllo glicemico. In questo trial sono stati arruolati 1.840 donne e 2.511 uomini, randomizzati a ROSI, metformina o gliburide (27) e le fratture sono state identificate come eventi avversi. In ADOPT, 4.351 pazienti sono stati seguiti per un periodo medio di 4 anni e 200 hanno riportato una frattura. Nel gruppo randomizzato a metformina (età media 57±10 anni; 44% donne), l'incidenza cumulativa di fratture (donne e uomini) era 1,20 per 100 pazienti-anno, con un'incidenza cumulativa di fratture (95% CI) del 5,6% (4,1-7,1) a 5 anni (28). Nel gruppo randomizzato a sulfoniluree (età media 57±10 anni; 42% donne), l'incidenza di fratture è stata simile: 1,20 per 100 pazienti-anno.

#### **Riepilogo**

I dati preclinici e clinici disponibili sembrano indicare che la metformina ha un buon

profilo di sicurezza per il mantenimento della bone health, ma sono necessari studi randomizzati prospettici per dimostrare il suo potenziale ruolo protettivo.

## ■ SULFONILUREE

Molti studi hanno indagato le azioni di questa classe di farmaci sul controllo glicemico e hanno chiaramente documentato l'aumento del rischio di ipoglicemia (29), che è associato ad un aumentato rischio fratturativo (aumentato rischio di cadute) (30). Tuttavia, solo pochi ricercatori hanno esaminato gli effetti diretti del farmaco sul tessuto osseo.

### *Studi preclinici*

Un piccolo numero di studi hanno indagato l'effetto di questi farmaci sulla "bone formation" e non ci sono dati consistenti disponibili sull'influenza delle sulfoniluree sul fenomeno di "bone resorption".

### *Formazione ossea*

Due studi condotti da Ma et al. hanno valutato gli effetti di glimepiride, una sulfonilurea di terza generazione, in osteoblasti di ratti. La glimepiride aumentata la proliferazione e la differenziazione degli osteoblasti attivando la via di "phosphoinositide 3-chinasi (PI3K) / Akt" (31). Gli stessi autori hanno osservato che il trattamento con glimepiride ha protetto gli osteoblasti mandibolari del ratto da danni causati da elevate concentrazioni di glucosio (32). Inoltre è stato osservato che la glimepiride inibisce i cambiamenti nel sistema scheletrico causati da carenza di estrogeni, intensificando la formazione ossea nei ratti femmine OVX Wistar con 3 mesi di età (33).

### *Studi clinici*

*Effetti sui marcatori del turnover osseo nell'uomo*

Nello studio ADOPT:

- il CTX è diminuito sia in donne e uomini trattati con gliburide (variazione percentuale dal basale a 12 mesi, rispettivamente: -3,3% e -4,3%) (18).
- ALP è stata ridotta dal trattamento con gliburide (18).

In una popolazione giapponese, i livelli di uNTx sono diminuiti in misura maggiore nelle donne in post-menopausa affette da diabete di tipo 2 che hanno ricevuto trattamento con sulfoniluree rispetto ai pazienti non trattati (23).

### *Effetti sul rischio di fratture*

Nella maggior parte degli studi, le sulfoniluree sono state considerate come gruppo di controllo, al fine di studiare gli effetti di altri trattamenti anti-diabetici (spesso TZD) sul metabolismo osseo. Per questo motivo, sono pochi gli studi disponibili riguardanti gli effetti diretti delle sulfoniluree sull'osso. Inoltre, una limitazione della maggior parte di questi studi è la mancanza di distinzione tra le fratture traumatiche e quelle da fragilità.

Nello studio ADOPT, le fratture sono state riportate in 49 pazienti (3,4%) appartenenti al gruppo gliburide, con un'incidenza pari a 1,15 per 100 pazienti-anno, con una incidenza cumulativa di fratture (95% CI) del 5,7% (3,9-7,6) a 5 anni (28).

Al contrario, in uno studio caso-controllo basato sulla popolazione giovanile in Danimarca che ha compreso tutti i casi di frattura (n=124.655), gli autori hanno rilevato che il trattamento con sulfoniluree era associato ad una riduzione significativa del rischio di frattura dell'anca (HR 0,74, 0,58-0,93) rispetto ai pazienti con diabete di tipo 2 senza trattamento (20). Uno studio più grande prospettico di coorte, che ha coinvolto 84.339 pazienti canadesi (età media 59 anni; 43% donne), ha rilevato che i pazienti trattati con sulfoniluree avevano un rischio di frattura più bassa rispetto ai pazienti trattati con TZD (34). Infine, in una coorte di pazienti giapponesi con diabete di tipo 2, il trattamento con sulfoniluree era associato ad un ridotto rischio di fratture vertebrali nelle donne in post-menopausa, ma non negli uomini, rispetto al trattamento con l'insulina o TZD (23).

Altri studi osservazionali hanno riportato un effetto neutro delle sulfoniluree sull'osso. Ad esempio, in uno studio caso-controllo, che ha coinvolto 1.945 pazienti italiani affetti da diabete di tipo 2, che sono stati seguiti per un periodo medio di 4 anni,

non è stata riportata alcuna associazione significativa tra fratture ossee e trattamento con sulfonilurea (25). Allo stesso modo, uno studio che coinvolgeva 1.964 residenti di Rochester non ha trovato alcun impatto significativo della somministrazione di sulfoniluree sul rischio di frattura (21) e, una sotto-analisi di studi case-series, finalizzata a valutare il rischio di fratture associato a TZD, non ha evidenziato un'associazione statisticamente significativa tra il trattamento con sulfoniluree e l'incidenza di fratture (35). Infine, dopo nove anni di follow-up, tra quasi 200.000 pazienti ospedalizzati in Scozia, non è stata rilevata una associazione tra rischio di frattura dell'anca e trattamento prolungato con sulfoniluree (24).

Al contrario, recentemente, i dati dello studio MROS hanno dimostrato che l'uso di sulfonilurea può rappresentare un fattore di rischio per fratture non vertebrali negli uomini anziani con diabete di tipo 2 HR 95% CI 1,66 (1,09, 2,51) (26).

### Riepilogo

I pochi studi preclinici e clinici relativi agli effetti delle sulfoniluree sull'osso hanno dimostrato che queste sembrano avere un effetto neutro sul rischio di frattura.

## ■ TIAZOLIDINEDIONI

Peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) sono un gruppo di recettori nucleari che agiscono come fattori di trascrizione, modulando l'espressione di diversi geni coinvolti nella regolazione della differenziazione e dello sviluppo cellulare, del metabolismo cellulare e della tumorigenesi (36).

Tali recettori nucleari, in seguito all'interazione con specifici ligandi (co-attivatori e co-repressori) sono traslocati nel nucleo dove modificano la loro struttura e regolano la trascrizione genica (37). La famiglia dei PPARs è costituita da tre isoforme: PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$  e PPAR $\gamma$  (38). A sua volta, sono state identificate tre isoforme del PPAR $\gamma$ , ottenute dopo splicing in siti differenti:  $\gamma$ 1 (espresso ubiquitariamente in

tutti i tessuti);  $\gamma$ 2 (espresso maggiormente nel tessuto adiposo);  $\gamma$ 3 (espresso nei macrofagi e nel tessuto adiposo bianco) (39). L'attivazione del PPAR $\gamma$  stimola l'adipogenesi e sopprime l'osteoblastogenesi, in parte attraverso l'inibizione dell'azione di Runx2, risultando nella riduzione del numero degli osteoblasti nel midollo osseo (39). I tiazolidinedioni, come il Pioglitazone (PIO) e il Rosiglitazone (ROSI) sono farmaci ipoglicemizzanti orali scoperti alla fine degli anni novanta per il trattamento del T2DM. Essi esercitano la loro funzione migliorando la sensibilità insulinica epatica e periferica attraverso l'attivazione di PPAR $\gamma$ .

### Studi preclinici

Molti studi hanno dimostrato come i TZD esercitino un effetto negativo sul metabolismo osseo, aumentando il riassorbimento osseo e riducendone la fase neoformativa.

### Formazione ossea

I meccanismi attraverso i quali i TZD riducano la formazione ossea non sono ancora completamente chiari. Le BMPCs (cellule progenitrici derivanti dal midollo osseo) possono differenziarsi in diverse linee cellulari (e.s. osteoblasti, mioblasti, condrociti, adipociti). PPAR $\gamma$  indirizza la differenziazione delle BMPC verso la linea adipocitaria, a discapito della linea degli osteoblasti (39). Lo squilibrio nella differenziazione tra adipociti e osteoblasti, a sfavore di questi ultimi (40-42), è probabilmente la causa principale di danno dei TZD sull'osso. Akune et al. hanno dimostrato che la aplo-insufficienza di PPAR $\gamma$  aumenta l'osteoblastogenesi *in vitro* e determina un aumento della massa ossea *in vivo* (43).

Studi effettuati *in vitro* sia su modelli animali che umani, hanno raccolto diverse evidenze:

- Il trattamento delle BMPCs con il ROSI induceva l'inibizione delle cellule TRAP positive e una riduzione dei livelli di collagene e OC (44).
- In diversi modelli murini trattati con ROSI si è osservato una ridotta espressione da parte degli osteoclasti di Runx2

- (45-47), Osterix (46), alpha1(I)collagene (44, 45), OC (44, 48), ridotta attività della ALP (47, 48) e un aumento dell'adipogenesi (49) attraverso l'espressione della proteina di legame degli acidi grassi adipocita specifico aP2 (44, 45).
- L'analisi della micro-architettura ossea ha mostrato volume osseo e tasso di formazione ossea ridotti in diversi modelli murini diabetici e non (45, 46, 50) con alterazione della struttura trabecolare (16) accompagnata da una riduzione significativa della BMD (45, 51). In particolare, in ratti OVX la somministrazione di ROSI era associata con una riduzione della BMD vertebrale e con la compromissione dell'architettura trabecolare (50) oltre che con un aumento della adiposità del midollo osseo (50). Evidenze simili sono state ottenute anche in ratti non OVX (52). Un recente studio ha confrontato gli effetti del PIO su un modello murino di diabete di tipo 2 e wild-type, dimostrando effetti negativi sul tessuto osseo trabecolare nel modello wild-type, ma non su quello diabetico (53).
  - In modelli di BMPC umane in vitro, il ROSI ha dimostrato di potenziare l'adipogenesi rispetto alla differenziazione osteogenica (54), aumentando l'espressione della proteina 4 di legame agli acidi grassi (marcatore di adipogenesi), e riducendo l'espressione di RUNX2 (55). In un RCT della durata di 6 mesi effettuato in pazienti diabetici trattati con PIO, si è osservata una riduzione dell'osteoblastogenesi e dei livelli di RNA del Runx2 e della OC rispetto alla somministrazione di placebo (54).
  - La via canonica del wingless-type MMTV integration site family (WNT) è un'importante via regolatoria della differenziazione osteogenica delle BMPC e la sua attivazione risulta nell'aumento della formazione ossea. Diverse evidenze hanno dimostrato, dopo trattamento con TZD, sia in modelli animali che umani, un aumento del Dickkopf-1 (DKK1) e della Sclerostina, entrambi inibitori della via canonica del WNT (56, 57).

### *Riassorbimento osseo*

Diversi studi hanno dimostrato come il trattamento con i TZD aumenti il tasso di riassorbimento osseo attraverso differenti modalità:

- l'aumento della differenziazione (58) e del numero (52, 59) degli osteoclasti, e la riduzione dell'espressione della OPG in modelli murini (60) e nelle BMPC umane (61).
- L'aumento del tasso di riassorbimento osseo è stato associato anche con una riduzione significativa di BMD e BMC (60), e della resistenza meccanica nei ratti (52).
- Nei ratti Wistar OVX, 12 settimane di trattamento con il ROSI erano associate con un aumento del grasso mesenchimale e una perdita maggiore di tessuto osseo con aumento dei marcatori di riassorbimento osseo (59).

### **Studi Clinici**

#### *Effetti sui marcatori del turnover osseo nell'uomo*

La maggior parte degli studi che ha valutato l'effetto dei TZD sui marker di metabolismo osseo ha evidenziato una riduzione dei marker di formazione ossea come il P1NP, l'OC e la ALP, e un aumento dei marcatori di riassorbimento; inoltre, buona parte delle evidenze riguardanti il ROSI sembra suggerire un effetto negativo sul metabolismo osseo. Tuttavia, ci sono evidenze discordanti per quanto riguarda gli effetti del PIO sul metabolismo osseo.

#### *Formazione ossea*

##### **Rosiglitazone**

Una riduzione dei livelli di P1NP è stata osservata in studi randomizzati che hanno indagato gli effetti del ROSI in donne sane in post-menopausa (62, 63) e in donne affette da T2DM (18). Una riduzione dell'OC è stata osservata anche in studi randomizzati che coinvolgono donne in post-menopausa sane (62, 63) e con diabete (64). Una riduzione della ALP osso specifica (bsALP) e della ALP totale è stata riportata anche in RCT condotti in donne sane in post-menopausa (63) e in popolazioni affette da T2DM (18, 64, 65).

Al contrario, uno studio RCT in doppio cieco, della durata di 6 mesi, condotto su 111 pazienti non ha trovato differenze statisticamente significative in termini di P1NP e OPG in donne e uomini trattati con ROSI rispetto al gruppo placebo (66).

#### Pioglitazone

Rispetto al ROSI, gli effetti del PIO sui marcatori di metabolismo osseo hanno ricevuto un'attenzione minore da parte degli studi condotti finora e, oltretutto, gli studi effettuati hanno riportato dati contrastanti. In particolare, una riduzione dei livelli di P1NP è stata rilevata in uno studio osservazionale che ha coinvolto donne diabetiche in età post-menopausa in trattamento con PIO (67). Al contrario, in 70 uomini affetti da T2DM, il trattamento con PIO per 24 settimane è stato associato con un incremento non significativo dei livelli del P1NP rispetto al basale e un incremento significativo dei livelli di sclerostina (68). Una riduzione dei livelli di OC è stata riportata in uno studio osservazionale in pazienti diabetici (69). Infine, sia in uomini che in donne affette da T2DM, nessuna differenza è stata riportata in termini di OC dopo 3 mesi di trattamento con PIO (67).

#### Riassorbimento osseo

##### Rosigliptazone

Sono stati osservati risultati contrastanti per quanto riguarda i cambiamenti nel livello di CTX dopo la somministrazione di TZD. La somministrazione di ROSI ha aumentato i livelli di CTX in donne affette da diabete di tipo 2 (18,66,70) e anche nelle donne sane in post-menopausa (63). Tuttavia, altri studi, non hanno trovato alcun cambiamento nei livelli di CTX in risposta alla somministrazione ROSI. Tra questi, abbiamo uno studio RCT che ha coinvolto 50 donne in post-menopausa che avevano ricevuto il ROSI per 14 settimane (62) e uno studio retrospettivo eseguito in pazienti cinesi con diabete di tipo 2 (71). Inoltre è stato anche indagato l'effetto del ROSI sui livelli di OPG circolanti. Nel South Danish Diabetes Study, RCT della durata di 2 anni, l'OPG è stata studiata come predittore di

malattia cardiovascolare in 327 pazienti con diabete di tipo 2. Gli autori hanno evidenziato che, dopo aggiustamento per i valori di HbA1c, la terapia con ROSI ha comportato una significativa riduzione del livello di OPG rispetto ad altri gruppi in trattamento con insulina ( $p=0,003$ ) (72).

#### Pioglitazone

È stato dimostrato che il trattamento con PIO per 24 settimane aumenti i livelli di CTX in una popolazione maschile affetta diabete tipo 2 (68). Alcuni autori hanno riportato anche una riduzione del livello sierico di OPG in pazienti affetti da diabete di tipo 2 successivamente alla somministrazione del PIO (73).

Al contrario, diversi studi hanno riportato un effetto neutro dei TZD sui livelli dei marcatori ossei. Nessun cambiamento significativo nei livelli di CTX è stato segnalato in risposta alla terapia con PIO durante un RCT che ha coinvolto donne in pre-menopausa con PCOS (durata del trattamento, 16 settimane) (74) o in uomini o donne con diabete di tipo 2 (3 mesi) (67). In uno studio recente, condotto su 156 donne in post-menopausa con alterata glicemia a digiuno (IFG) o ridotta tolleranza al glucosio (IGT), trattate con PIO per 12 mesi, non sono stati osservati cambiamenti significativi della bsALP, dell'OC, del P1NP, del CTX e del uNTx (75). Risultati simili sono stati osservati in un RCT che ha coinvolto 86 persone con diabete di tipo 2 o IGT. Dopo 12 mesi, non sono stati osservati cambiamenti significativi nei livelli di P1NP o CTX nel gruppo trattato con PIO rispetto al placebo (76). Allo stesso modo, uno studio retrospettivo in una popolazione cinese con diabete di tipo 2, non ha trovato nessun cambiamento significativo nei livelli dell'OC, marcatore di formazione ossea, nei gruppi di pazienti trattati con entrambi i TZD (71).

#### Effetti sul rischio di fratture

Alcuni studi osservazionali hanno evidenziato la riduzione della densità minerale ossea associata al trattamento con TZD. In particolare nello studio condotto su "Health, Aging and Body Composition cohort"

è stata registrata una diminuzione della BMD (totale, colonna lombare e del trocantere) tra le donne, ma non tra gli uomini trattati con TZD dopo 4 anni di follow-up (77). Una riduzione della BMD a livello della colonna lombare e del femore è stata riportata anche in uno studio retrospettivo condotto tra donne cinesi affette da diabete di tipo 2 che avevano ricevuto 24-28 mesi di trattamento con TZD (71). La maggior parte degli studi osservazionali eseguiti hanno confermato i risultati dei dati preclinici e hanno mostrato un aumento significativo del rischio di frattura associato alla somministrazione dei TZD (78). Gli effetti negativi dei TZD sono particolarmente evidenti nelle donne (22, 23, 34, 79), ma un piccolo numero di studi suggerisce anche effetti negativi negli uomini (35, 80-82).

Un punto di non ritorno nella storia clinica del TZD è stata la prima evidenza di un aumento del rischio di fratture osservato nello studio ADOPT (27). Successivamente, diversi trial hanno investigato gli effetti dei TZD sulla BMD e/o il rischio di frattura. Una pietra miliare è stata la pubblicazione da parte di Loke et al. di una vasta meta-analisi che ha stimato il rischio di fratture associato all'uso a lungo termine di TZD. Questa meta-analisi ha incluso 10 studi randomizzati controllati (totale di 13.715 partecipanti) e 2 studi osservazionali (31.679 di partecipanti). Gli autori hanno evidenziato che entrambi i TZD (il ROSI e il PIO) aumentano il rischio di fratture nelle donne rispetto alle terapie di controllo, ma non è stata identificata alcuna associazione significativa tra la terapia TZD e fratture da fragilità negli uomini. Inoltre, due dei RCT hanno dimostrato una riduzione della BMD lombare e femorale nelle donne, in concomitanza della somministrazione di TZD. Gli autori hanno concluso che il trattamento a lungo termine con TZD è associato ad un aumento di quasi 2 volte del rischio di fratture nelle donne in post-menopausa con diabete di tipo 2 (HR 1,45, 95% intervallo di confidenza 1,18-1,79,  $p < 0,001$ ) (83). Inoltre, la rianalisi dei medesimi dati da parte di Toulis et al. ha confermato l'aumento del rischio di fratture associato con ROSI (HR 1,64, 95% in-

tervallo di confidenza 1,24-2,17,  $p < 0,001$ ), ma non ha trovato una chiara associazione tra il PIO e il rischio di frattura (84).

Per quanto riguarda il sito di fratture, questi studi hanno rivelato il coinvolgimento vertebrale (23, 35, 82, 85) e femorale (35, 80, 82, 85) ma hanno anche documentato una compromissione della resistenza ossea in siti periferici come caviglia e piede (34, 35, 79-82, 86, 87). L'associazione tra l'uso dei TZD e le fratture da fragilità sembrerebbe essere più forte in associazione a periodi di esposizione maggiori (35, 85). Quando il rischio di fratture associato con il ROSI e il PIO è stato paragonato, la maggior parte degli studi non riporta differenze significative di rischio tra i due agenti (35, 81, 82, 86, 88). Solamente uno studio prospettico di coorte ha mostrato che il PIO può essere maggiormente associato a fratture rispetto ROSI (34).

Nelle donne sane (62,63), in quelle con T2DM in menopausa (64) e negli uomini affetti da diabete tipo 2, il trattamento con ROSI è stato associato ad una significativa riduzione della BMD (89). Un RCT condotto in doppio cieco su 225 donne in post-menopausa con diabete di tipo 2 (età media  $63,8 \pm 6,52$  anni) ha rilevato che il trattamento con il ROSI è associato ad una significativa riduzione della BMD a livello del collo del femore e del femore totale, inoltre non è stata osservata alcuna ulteriore perdita di massa ossea dopo la cessazione della somministrazione del ROSI, e la perdita ossea a livello del femore totale è stata attenuata quando il trattamento è stato cambiato da ROSI a metformina (70).

Borges et al. hanno confrontato l'efficacia e la sicurezza di Avandamet® (ROSI/metformina), comparandolo con la sola metformina, in termini di controllo glicemico e BMD in uno studio randomizzato in doppio cieco in 688 pazienti (età media  $51,1 \pm 10,7$  y.o.; 47% donne), della durata di 80 settimane. Rispetto al gruppo trattato con metformina, il gruppo che ha ricevuto Avandamet® ha mostrato una riduzione significativamente maggiore della BMD a livello della colonna lombare e del femore totale, ma non sono state riportate differenze significative tra i gruppi a livello di

radio, collo del femore o BMD totale (90). L'analisi post-hoc dei grandi studi clinici come l'ADOPT (27) e lo studio "ROSI evaluated for cardiovascular outcomes in oral agent combination therapy for type 2 diabetes" (RECORD) (91) hanno rivelato un aumento del rischio di fratture in pazienti trattati con ROSI.

La post-hoc analisi dei dati dello studio ADOPT ha mostrato un aumento del rischio di fratture nelle donne (9,3% dei pazienti), con un rischio cumulativo di frattura del 15,1% (95% CI, 11,2-19,1%) a 5 anni nei pazienti trattati con ROSI. La stima del hazard risk (95% CI) di frattura nel gruppo dei pazienti trattati con il ROSI rispetto a metformina è stata 1.81 (1,17-2,8,  $p=0,008$ ) e per il ROSI rispetto a gliburide era 2.13 (1,3-3,51,  $p=0,0029$ ). Il tasso più alto di frattura si è verificato nelle donne >60 anni di età. Gli arti inferiori e superiori sono stati i siti più comunemente colpiti. Negli uomini, non è stato osservato alcun effetto negativo di ROSI sul rischio di frattura (28).

Nel RECORD, uno studio RCT multicentrico, 4.447 pazienti affetti da diabete di tipo 2 (età media  $58,4\pm 8,1$  anni; 48,5% donne) in trattamento con metformina o con sulfonilurea sono stati randomizzati al trattamento con il ROSI ( $n=2220$ ) oppure ad una combinazione di metformina e sulfonilurea per valutare le potenziali complicanze cardiovascolari. Dopo un follow-up medio di 5,5 anni, l'incidenza complessiva di fratture ossee riportate dai pazienti è stata più alta nel gruppo trattato con il ROSI rispetto agli altri gruppi di trattamento (RR 1,57, 95% CI 1,26-1,97,  $p<0,0001$ ). L'aumento del rischio è stato osservato nelle donne ma non negli uomini. Gli arti superiori e inferiori (ma non la colonna vertebrale o il femore) sono stati più frequentemente interessati dall'evento fratturativo (91). Da notare, tuttavia, che il tasso di frattura non era un endpoint primario o secondario in nessuno degli studi, ADOPT e RECORD, e questi non sono stati disegnati per indagare il rischio di frattura.

Un piccolo studio italiano ha confrontato il trattamento con sola metformina rispetto a metformina più ROSI in 43 maschi con

diabete di tipo 2 (età media 69 anni). Un aumento significativo del tasso di frattura vertebrale nel gruppo trattato con metformina e ROSI (66,7% vs 27,3%;  $p=0,01$ ) è stato riportato rispetto al gruppo di controllo, anche dopo aggiustamento per età e BMI(92).

### **Pioglitazone**

Il trattamento con il PIO induce una riduzione significativa della BMD alla colonna lombare e al collo femorale nelle donne in premenopausa affette da PCOS (età media 34 anni) (74), alla colonna vertebrale nel tratto toracico nelle donne con IGT, e alla colonna lombare e alle gambe negli uomini con IGT (età media  $52,3\pm 0,5$  anni; 58% donne) (93). Una riduzione della BMD è stata anche documentata in 55 pazienti con diabete di tipo 2 (età media  $66,5\pm 10$  anni; 32,7% donne) al collo del femore e al radio, ma non a livello della colonna lombare (69). In un recente RCT, 86 pazienti con diabete di tipo 2 o IGT (età media 63,5 anni; 48% donne) sono stati randomizzati al trattamento con PIO o placebo (76). Dopo 12 mesi, il gruppo dei pazienti trattati con il PIO ha mostrato una diminuzione della BMD a livello femorale, ma nessun cambiamento nella BMD a livello della colonna lombare o in altri siti (76). La dimostrazione che PIO aumenta il grasso del midollo osseo nei pazienti diabetici tipo 2 (94) può spiegare in parte la diminuzione della BMD (95).

Nello studio "Prospective pioglitazone Clinical Trial In macrovascular Events (PROactive)", sono stati reclutati 5.238 soggetti affetti da diabete di tipo 2 (età media 61,8 anni; 33,88% donne) ed è stato registrato un aumento della prevalenza di fratture periferiche (livello distale degli arti) come un effetto avverso nelle donne dopo il trattamento con il PIO. Il tasso di frattura è stato maggiore nelle donne in età avanzata e il rischio aumentava solo dopo il primo anno di trattamento. Nessun aumento del rischio di fratture è stato trovato negli uomini (96). Alcuni studi hanno riportato effetti neutri del PIO sull'apparato scheletrico, ma solamente Bone et al. (75) hanno eseguito uno studio disegnato per indagare gli effetti sul-

la BMD e i marcatori del turnover osseo. In questo recente studio randomizzato, che ha coinvolto 156 donne in postmenopausa con IGT o IFG (età media  $59,6 \pm 5,6$  anni) che hanno ricevuto il trattamento con il PIO o placebo per 12 mesi, seguito da un periodo di washout di 6 mesi, nessuna differenza statisticamente significativa è stata osservata in termini di BMD in qualsiasi sito dopo 12 mesi di trattamento (75). Nello studio "Pioglitazone Effect on Regression of Intravascular Sonographic Coronary Obstruction Prospective Evaluation" (PERISCOPE), condotto su 543 partecipanti (età media  $59,8 \pm 9,2$  anni; 32,6% donne) nessun aumento di frattura (come evento avverso) è stato osservato tra i pazienti trattati con il PIO (97).

### Riepilogo

Abbiamo una grande mole di dati preclinici e clinici che sembrano confermare l'associazione tra l'uso dei TZD e l'aumentato rischio di fratture nelle donne. Questi studi hanno rivelato il coinvolgimento di siti scheletrici sia centrali (colonna vertebrale e anca) che periferici ed è probabile che il rischio sia direttamente proporzionale al periodo di esposizione al farmaco. Inoltre le donne in post-menopausa sembrano essere quelle più colpite dagli effetti negativi dei TZD.

## ■ SISTEMA INCRETINICO

Le incretine sono un gruppo di ormoni gastrointestinali che determinano una diminuzione dei livelli di glucosio attraverso l'inibizione parziale del rilascio di glucagone, il ritardato svuotamento gastrico con ridotto assorbimento di cibo. Le due molecole che meglio rappresentano questa classe di ormoni sono il glucagon-like peptide-1 (GLP-1) e glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP). L'Exendina-4 è un peptide agonista del recettore per il GPL. Sia il GLP-1 che il GIP sono rapidamente inattivati dall'enzima dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) (98). Evidenze crescenti suggeriscono che le incretine possano modulare il sistema osseo, attraverso la regolazione della proliferazione dei progenitori ossei che originano dalle

cellule mesenchimali (99). Molti studi preclinici hanno dimostrato un effetto positivo del sistema incretinico sull'osso ma recenti studi clinici hanno evidenziato che questo non si traduce in un effetto clinico significativo sul tessuto scheletrico.

### Studi preclinici sugli analoghi del GLP1

Alcuni studi hanno valutato l'effetto degli analoghi del GLP1 (GLP1-a) sui tessuti ossei dimostrando che questi determinano un aumento nella formazione ossea e una riduzione del riassorbimento osseo.

#### Formazione ossea

Il potenziale ruolo dei GLP1-a nella modulazione della formazione ossea è stato suggerito dalla presenza dei recettori per GLP-1, GLP-2, e GIP sugli osteoblasti a stadi maturativi differenti (99), e sugli osteociti murini (100).

Le evidenze degli studi *in vitro* e su modelli animali hanno mostrato che:

- gli GLP1-a aumentano l'espressione dell'osteocalcina (OC) nelle cellule MC3T3E1 (101) e prevengono la differenziazione delle BMPC umane in adipociti, diminuendo l'espressione di PPAR $\gamma$  (102). L'aumento dei livelli di OC dopo la somministrazione di GLP-1 è stato confermato *in vivo* da studi che hanno utilizzato vari modelli murini, inclusi topi diabetici (100), insulino-resistenti (103) such as glucose-dependent insulinotropic peptide (GIP, iperlipidici e ipercalorici (104).
- In topi anziani con osteoporosi indotta da ovariectomia, l'exendina-4 determina un aumento dei markers di formazione ossea quali: ALP, OC e P1NP, e promuove l'espressione di Col1 e Runx2 (105).
- L'exendina4, interagisce con la via di WNT per promuovere la formazione ossea. Dopo trattamento con questa molecola è stato osservato una riduzione dei livelli di sclerostina negli osteociti murini e, in vivo, nei topi diabetici (100). Inoltre le cellule che non esprimono il recettore pancreatico per GLP-1, non mostrano interazioni con la via di WNT (101).

Inoltre, diversi studi hanno dimostrato come il GLP-1 possa influenzare la qualità dell'osso. Ad esempio, l'osso trabecolare dei topi diabetici e di quelli insulino-resistenti mostra un aumento dell'anisotropia che tende a ridursi dopo la somministrazione di GLP-1 (103). Infatti, comparati con topi wild type, i maschi con delezione per il recettore GLP-1 mostrano una riduzione della resistenza ossea (106). Infine un aumento nella BMD a livello femorale è stato osservato nei topi diabetici dopo trattamento con Exenidina-4 rispetto a quelli trattati con vildagliptin mentre la liraglutide nei topi obesi determina un minimo ma significativo incremento della BMD corporea (107).

#### *Riassorbimento osseo*

Sia il GLP-1 che l'exendina-4 modulano il riassorbimento osseo attraverso attivazione di diversi pathways: aumentano il rapporto tra OPG/RANKL (103-105) e aumentano l'espressione di calcitonina (108).

Rispetto ai controlli, i topi deleti per il recettore GLP-1 (Glp-1r(-/-)), mostrano livelli di calcitonina-RNA più bassi, un numero maggiore di osteoclasti e un maggiore riassorbimento osseo (108). Infatti l'exendina-4 riduce i livelli di CTX nei topi anziani con osteoposi indotta dall'ovariectomia (105).

#### **Studi preclinici sugli inibitori del DPP-4**

Vari studi hanno indagato gli effetti degli inibitori del DPP-4 (DPP-4-i) sulla formazione ossea con risultati contraddittori. Non ci sono forti evidenze sulla relazione tra DPP-4-e riassorbimento osseo.

#### *Formazione ossea*

Diverse evidenze sono state pubblicate in merito alla somministrazione dei DPP4-i e i meccanismi di formazione ossea:

- Il trattamento con Saxagliptin ha mostrato sia a livello BMPC che MC3T3E1 una riduzione nell'espressione di Runx2 e OC, e nella produzione e mineralizzazione di collagene tipo 1. Inoltre è stato riportato un aumento nell'espressione di PPAR $\gamma$  (109).
- Un impatto neutro o positivo sulla qua-

lità dell'osso da parte degli inibitori del DPP4 è stato evidenziato da studi recenti che coinvolgono topi ovariettomizzati, non diabetici, trattati con Sitagliptin, PIO, ROSI, Sitagliptin più PIO o placebo per 12 settimane. Rispetto agli altri gruppi i topi trattati con le dosi maggiori di Sitagliptin mostrano la minore perdita di BMD alla fine dello studio (110).

- Un aumento della BMD è stato riportato dopo trattamento con Sitagliptin nei topi alimentati con dieta ad alto contenuto di grassi ma questo aumento viene perso dopo ovariectomia (111).

Infine i pochi studi che hanno valutato gli effetti del Sitagliptin sui parametri di *bone quality* hanno mostrato risultati contrastanti. È stato infatti registrato un aumento della BMD volumetrica e un aumento dell'architettura trabecolare nei topi wild type femmine trattati con dieta ad alto contenuto di grassi (111) ma è stato anche riportato un danno a livello della micro-architettura delle ossa lunghe (109). Infine un effetto neutro sulla qualità dell'osso corticale e trabecolare è stato osservato nei modelli murini diabetici trattati con DPP-4-i (53). Gli studi di topi *DPP-4 (-/-)* (inattivazione genetica del DPP-4) mostrano un danno alla *bone quality* dopo ovariectomia.

#### *Riassorbimento osseo*

In topi Wistar con diabete indotto da streptozocina, il trattamento con Sitagliptin rafforza la struttura dell'osso trabecolare (112). In aggiunta, si è assistito a una diminuzione dei livelli di CTX nei topi diabetici trattati con Sitagliptin rispetto ai diabetici non trattati (112).

#### **Studi clinici**

##### *Effetti sui marcatori del turnover osseo nell'uomo*

#### **GLP-1-a**

Il trattamento con GLP1-a non ha determinato nessun effetto dannoso sul metabolismo osseo. Per esempio dopo la somministrazione di Exenatide, non sono stati registrati cambiamenti nei marker di formazione ossea come ALP sierica (113).

### DPP-4-i

In un RCT, della durata di un anno, che ha confrontato il trattamento con Vildagliptin versus placebo, in pazienti affetti da T2DM che non avevano mai effettuato terapia, non si sono verificati cambiamenti nei livelli di CTX o ALP nel gruppo trattato con Vildagliptin (114). Recentemente uno studio su 20 donne in menopausa ha riscontrato una importante riduzione di ALP e uDPD in risposta al trattamento con Sitagliptin (19).

#### *Effetti sul rischio di fratture*

Ci sono dati contrastanti per quanto concerne i cambiamenti di BMD dopo trattamento con GLP-a. Un aumento dose-dipendente della BMD femorale è stato riportato dopo trattamento con GLP2 in donne post menopausa (età media 65.3 anni) (115), ma nessun cambiamento significativo è stato riportato nella BMD totale nei 69 pazienti trattati con Metformina a cui si è aggiunto un trattamento con Exenatide o Glargine (età media 59±8 anni; 34,7% donne) (113). Recentemente 3 meta analisi hanno valutato l'incidenza di fratture nei pazienti trattati con un GLP1-a (116,117) e un DPP-4-i (118). Mabileau et al. hanno evidenziato che gli agonisti del GLP-1 non determinano variazioni sul rischio di fratture (116): il numero totale di fratture riportate nello studio è stato solo di 19 (GLP1-a, 13; competitor, 6) (116). Su et al. hanno riscontrato un diverso rischio di frattura in base al tipo di GLP1-a utilizzato. Nello specifico la Liraglutide è stata associata con una significativa riduzione del rischio di frattura (MH-OR =2.09, 95% CI 1.03-4.21) (117).

Monami et al. hanno analizzato 28 trials che hanno arruolato in totale 11880 in trattamento con DPP4-i e 9.175 pazienti come controllo.

La terapia con DPP-4-i è stata associata con una riduzione del rischio di fratture (OR 0,60; 95% CI, 0,37-0,99) anche dopo aver escluso il confronto con i TZD e Sulfaniluree (118). Il grande limite dello studio è rappresentato dal fatto che le fratture sono state riportate come evento avverso

e non valutate come scopo primario o secondario. Inoltre la durata media del trial è stata solo di 35 settimane.

Una analisi post hoc di 20 RCTs, con un numero totale 9156 pazienti affetti da T2DM, avente lo scopo di stimare la sicurezza di Saxagliptin, ha evidenziato che l'incidenza di fratture per 100 persone-anno era di 1,1 per Saxagliptin vs 0,6 nei controlli (IRR 95% CI, OR 1,81, 1,04-3,28) e che quando il Saxagliptin era somministrato con Metformina questa diveniva 1.3 per il Saxagliptin versus 0.7 per i controlli (IRR 95% CI, OR 2,06, 1,01-4,54) (119).

### **Riepilogo**

I pochi dati sia clinici che preclinici sembrano indicare che gli analoghi del GLP e gli inibitori del DPP-4 non hanno nessun effetto negativo sulla salute dell'osso.

## ■ INIBITORI DEL SGLT2

IL co-trasportatore sodio-glucosio (SGLT2) è deputato al riassorbimento di glucosio nel tratto prossimale del rene e la sua inibizione rappresenta una novità terapeutica nel T2DM. Il meccanismo di azione di questi agenti ha sollevato quesiti sulla sicurezza a livello osseo.

### **Studi preclinici**

#### *Formazione ossea*

Nei topi, un aumento della mineralizzazione tissutale e della crescita dell'osso trabecolare è stato riportato dopo esposizione a dosi di Dapagliflozin 5.000 volte superiori alla dose massima raccomandata per gli usi clinici (120). Nei topi obesi trattati con una dieta ad alto contenuto di grassi il trattamento con glifozina non ha determinato riduzione della BMD (121). Infine non sono stati riscontrati cambiamenti nei marker di formazione ossea nei ratti trattati con Canagliflozin (122).

Recentemente è stato pubblicato un trial condotto su modelli murini (male diabetic DBA/2J mice e control mice without diabetes) trattati con Canagliflozin. I risultati dello studio sembrano dimostrare un "impairment" del compartimento trabecolare

osseo per i topi non diabetici trattati con il glicosurico (123).

#### *Riassorbimento osseo*

È stato osservato che il Canaglifozin è in grado di incrementare il livello dei markers di riassorbimento osseo incluso il PTH (122).

#### **Studi clinici**

##### *Effetti sui marcatori del turnover osseo nell'umano*

Uno studio clinico ha valutato le modificazioni di PINP e CTX nei pazienti affetti da T2DM trattati con Dapagliflozin versus placebo senza evidenziare differenze significative tra i due gruppi (124). Recentemente, lo stesso gruppo di autori ha valutato il trattamento con Dapagliflozin in un RCT avente come endpoint secondario la sicurezza a livello osseo, arruolando 182 pazienti, randomizzati per ricevere Dapagliflozin o placebo in aggiunta alla Metformina open-label. Dopo due mesi di trattamento, non sono stati osservati cambiamenti significativi nei marcatori di turnover osseo (125). Altri studi hanno paragonato gli effetti del Dapagliflozin e degli altri farmaci per il trattamento del diabete sul metabolismo del calcio: nei pazienti trattati con Dapagliflozin si è riscontrato solo un lieve aumento nella media dei livelli di PTH (126). Il Canaglifozin si associa ad un aumento di  $\beta$ -CTX e osteocalcina dopo 26 e 52 settimane di trattamento con il farmaco (127), anche se si ipotizza che l'innalzamento dei valori di  $\beta$ -CTX possa essere correlato alla repentina perdita di peso che il farmaco induce.

##### *Effetti sul rischio di fratture*

Sono solo due gli studi aventi come obiettivo primario e secondario gli effetti del Dapagliflozin sull'osso. Il primo è un RCT che ha coinvolto 180 pazienti (età media di  $60.7 \pm 7.49$  anni; 44,4% donne) trattati con Metformina più Dapagliflozin o placebo. Dopo almeno un anno di trattamento non sono state evidenziate differenze significative tra i gruppi in termini di BMD e fratture (124). In ogni caso deve essere considerato il possibile effetto protettivo della

Metformina sull'osso (124). La stessa popolazione è stata valutata dagli stessi autori dopo 2 anni di osservazione e non sono stati riscontrati cambiamenti nella BMD tra i due gruppi (125). Un altro trial effettuato su 250 pazienti (età media 67 anni, 35,2% donne) ha riportato un aumento del rischio di fratture nei pazienti affetti da T2DM e moderato danno renale, che ricevevano trattamento con Dapagliflozin, rispetto ai controlli che non hanno riportato nessun evento fratturativo (128). Ad ogni modo, tutte le fratture si sono verificate dopo un trauma e tutti i pazienti erano affetti da comorbidità severe (128). Per quanto riguarda il Canagliflozin, uno studio clinico condotto su 714 donne in menopausa (55-80anni) con T2DM ha mostrato una piccola riduzione nella BMD a livello lombare e femorale (122). La scheda tecnica del Canagliflozin riporta un'incidenza di fratture compresa tra 14 e 18 per 1000 pazienti anno (129). Inoltre, fratture degli arti superiori sono state riportate più comunemente con Canagliflozin rispetto agli altri trattamenti (122, 129).

Recentemente, è stato pubblicato uno studio randomizzato in doppio cieco controllato verso placebo della durata complessiva di 104 settimane atto a valutare gli effetti del Canagliflozin (100 mg/die o 300 mg/die) sulla BMD e sui Bone Turnover Markers di soggetti affetti da diabete mellito tipo 2 (716 soggetti di età compresa tra 55-80 anni) (127). Tutti i partecipanti dello studio sono stati sottoposti ad indagine DEXA (tempo 0, 26, 52 e 104 settimane dall'inizio del trattamento) e 114 di loro a "quantitative computed tomography and finite element analysis" per valutazione della resistenza ossea (tempo 0 e 52 settimane). Al termine del periodo di osservazione, il trattamento con Canagliflozin (sia 100 che 300 mg) era associato ad una riduzione significativa della BMD a livello del femore totale (placebo -0,8%, Cana 100 mg -1,7%, Cana 300 mg -2,1%; Placebo vs Cana 100 mg: -0,9%, 95% CI -1,5, -0,2; Placebo vs Cana 100 mg: -1,2%, 95% CI -1,9, -0,6). Gli altri siti scheletrici indagati non hanno mostrato alcuna significativa variazione della BMD. La resistenza ossea non sem-

brava essere intaccata dal trattamento con l'SGLT<sub>i</sub> (127).

Un altro studio di fase 3 randomizzato condotto in 10194 pazienti affetti da diabete mellito tipo 2 già arruolati all'interno di "9 placebo- and active-controlled studies" ha stimato l'effetto del Canagliflozin sul rischio di frattura (130). Gli autori concludono che il Canagliflozin si associa a un aumento del rischio di fratture agli arti superiori ed inferiori, soprattutto nei pazienti con alto rischio cardiovascolare. In particolare, i pazienti dello studio CANVAS che facevano uso di Canagliflozin mostravano un aumento del rischio di frattura a livello degli arti superiori ed inferiori rispetto al placebo (Canagliflozin 4% vs placebo 2,6%). L'incidenza degli eventi era simile tra il gruppo trattato con 100 mg (3,9%) e 300 mg (4%). Gli studi non-CANVAS non mostravano invece differenza significativa nel tasso di frattura secondaria al trattamento con glicosurico (Canagliflozin 1,8% vs placebo 1,5%). Questo aumento di

fratture non può essere spiegato con il lieve decremento della BMD a livello del femore totale, suggerendo che altri fattori, come ad esempio l'aumento del rischio di cadute da ipotensione ortostatica, o altri effetti indiretti del farmaco sull'omeostasi dell'osso possano esserne la causa (130).

### Riepilogo

I dati ottenuti finora sembrerebbero essere divergenti: in una prima fase sono stati pubblicati dati rassicuranti per quanto riguarda l'utilizzo degli SGLT<sub>2</sub>-i sul metabolismo osseo; tuttavia, gli ultimi dati pubblicati sul Canagliflozin destano alcune preoccupazioni, anche se diversi fattori confondenti possano aver costituito importanti bias durante l'analisi dei dati. Gli effetti del Canagliflozin sulle fratture continuano ad essere monitorizzati in studi come il CANVAS, CANVAS-R E CREDENCE. I risultati di questi trials potranno fornire maggiori informazioni in merito all'interplay tra sistema scheletrico e utilizzo di SGLT<sub>2</sub>-i.

### RIASSUNTO

La fragilità ossea in corso di diabete può essere giustificata da svariate condizioni fisiopatologiche. I farmaci ipoglicemizzanti utilizzati per ottimizzare il controllo glicometabolico possono influenzare negativamente la bone health. In particolare, i tiazolidinedioni sono noti per l'impatto negativo sulla salute ossea. Confortanti sembrano invece le evidenze riguardanti l'utilizzo degli inibitori della dipeptidil peptidasi-4 e gli agonisti del GLP-1. Mentre sono pochi e contrastanti gli studi sulle sulfaniluree, dati preclinici sembrano suggerire un effetto pro-osteoblastico della metformina. Poche ma non confortanti le evidenze inerenti gli SGLT<sub>2</sub>-i. Questa review si pone l'obiettivo di valutare l'effetto dei farmaci antidiabetici sul metabolismo osseo.

### ■ BIBLIOGRAFIA

1. Cortizo AM, Sedlinsky C, McCarthy AD, et al. Osteogenic actions of the anti-diabetic drug metformin on osteoblasts in culture. *Eur J Pharmacol.* 2006; 536: 38-46.
2. Kanazawa I, Yamaguchi T, Yano S, et al. Metformin enhances the differentiation and mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells via AMP kinase activation as well as eNOS and BMP-2 expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008; 375: 414-9.
3. Jang WG, Kim EJ, Bae I-H, et al. Metformin induces osteoblast differentiation via orphan nuclear receptor SHP-mediated transactivation of Runx2. *Bone.* 2011; 48: 885-93.
4. Zhen D, Chen Y, Tang X. Metformin reverses the deleterious effects of high glucose on osteoblast function. *J Diabetes Complications.* 2010; 24: 334-44.
5. Molinuevo MS, Schurman L, McCarthy AD, et al. Effect of metformin on bone marrow progenitor cell differentiation: in vivo and in vitro studies. *J Bone Miner Res.* 2010; 25: 211-21.
6. Schurman L, McCarthy AD, Sedlinsky C, et al. Metformin reverts deleterious effects of advanced glycation end-products (AGEs) on osteoblastic cells. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2008; 116: 333-40.
7. Gao Y, Li Y, Xue J, et al. Effect of the anti-diabetic drug metformin on bone mass in ovariectomized rats. *Eur J Pharmacol.* 2010; 635: 231-6.
8. Sedlinsky C, Molinuevo MS, Cortizo AM, et al. Metformin prevents anti-osteogenic in vivo

- and ex vivo effects of rosiglitazone in rats. *Eur J Pharmacol.* 2011; 668: 477-85.
9. Wang C, Li H, Chen S-G, et al. The skeletal effects of thiazolidinedione and metformin on insulin-resistant mice. *J Bone Miner Metab.* 2012; 30: 630-7.
  10. Tolosa MJ, Chuguransky SR, Sedlinsky C, et al. Insulin-deficient diabetes-induced bone microarchitecture alterations are associated with a decrease in the osteogenic potential of bone marrow progenitor cells: preventive effects of metformin. *Diabetes Res Clin Pract.* 2013 ;101: 177-86.
  11. Kasai T, Bandow K, Suzuki H, et al. Osteoblast differentiation is functionally associated with decreased AMP kinase activity. *J Cell Physiol.* 2009; 221: 740-9.
  12. Salai M, Somjen D, Gigi R, et al. Effects of commonly used medications on bone tissue mineralisation in SaOS-2 human bone cell line: an in vitro study. *Bone Joint J.* 2013; 95-B: 1575-80.
  13. Mai Q-G, Zhang Z-M, Xu S, et al. Metformin stimulates osteoprotegerin and reduces RANKL expression in osteoblasts and ovariectomized rats. *J Cell Biochem.* 2011; 112: 2902-9.
  14. Liu L, Zhang C, Hu Y, et al. Protective effect of metformin on periapical lesions in rats by decreasing the ratio of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand/osteoprotegerin. *J Endocrinol.* 2012; 38: 943-7.
  15. Wu W, Ye Z, Zhou Y, Tan W-S. AICAR, a small chemical molecule, primes osteogenic differentiation of adult mesenchymal stem cells. *Int J Artif Organs.* 2011; 34: 1128-36.
  16. Patel JJ, Butters OR, Arnett TR. PPAR agonists stimulate adipogenesis at the expense of osteoblast differentiation while inhibiting osteoclast formation and activity. *Cell Biochem Funct.* 2014.
  17. Jeyabalan J, Viollet B, Smitham P, et al. The anti-diabetic drug metformin does not affect bone mass in vivo or fracture healing. *Osteoporos Int.* 2013; 24: 2659-70.
  18. Zinman B, Haffner SM, Herman WH, et al. Effect of rosiglitazone, metformin, and glyburide on bone biomarkers in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; 95: 134-42.
  19. Hegazy SK. Evaluation of the anti-osteoporotic effects of metformin and sitagliptin in postmenopausal diabetic women. *J Bone Miner Metab.* 2014.
  20. Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Relative fracture risk in patients with diabetes mellitus, and the impact of insulin and oral antidiabetic medication on relative fracture risk. *Diabetologia.* 2005; 48: 1292-9.
  21. Melton LJ, Leibson CL, Achenbach SJ, et al. Fracture risk in type 2 diabetes: update of a population-based study. *J Bone Miner Res.* 2008; 23: 1334-42.
  22. Solomon DH, Cadarette SM, Choudhry NK, et al. A cohort study of thiazolidinediones and fractures in older adults with diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94: 2792-8.
  23. Kanazawa I, Yamaguchi T, Yamamoto M, et al. Relationship between treatments with insulin and oral hypoglycemic agents versus the presence of vertebral fractures in type 2 diabetes mellitus. *J Bone Miner Metab.* 2010; 28: 554-60.
  24. Colhoun HM, Livingstone SJ, Looker HC, et al. Hospitalised hip fracture risk with rosiglitazone and pioglitazone use compared with other glucose-lowering drugs. *Diabetologia.* 2012; 55: 2929-37.
  25. Monami M, Cresci B, Colombini A, et al. Bone fractures and hypoglycemic treatment in type 2 diabetic patients: a case-control study. *Diabetes Care.* 2008; 31: 199-203.
  26. Napoli N, Strotmeyer ES, Ensrud KE, et al. Fracture risk in diabetic elderly men: the MrOS study. *Diabetologia.* 2014; 57: 2057-65.
  27. Kahn SE, Haffner SM, Heise MA, et al. Glycemic durability of rosiglitazone, metformin, or glyburide monotherapy. *N Engl J Med.* 2006; 355: 2427-43.
  28. Kahn SE, Zinman B, Lachin JM, et al. Rosiglitazone-associated fractures in type 2 diabetes: an Analysis from A Diabetes Outcome Progression Trial (ADOPT). *Diabetes Care.* 2008; 31:8 45-51.
  29. Monami M, Dicembrini I, Kundisova L, et al. A Meta-Analysis Of The Hypoglycemic Risk In Randomized Controlled Trials With Sulphonylureas In Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2014.
  30. Johnston SS, Conner C, Aagren M, et al. Association between hypoglycaemic events and fall-related fractures in Medicare-covered patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2012; 14: 634-43.
  31. Ma P, Gu B, Ma J, et al. Glimepiride induces proliferation and differentiation of rat osteoblasts via the PI3-kinase/Akt pathway. *Metabolism.* 2010; 59: 359-66.
  32. Ma P, Xiong W, Liu H, et al. Extrapaneatic roles of glimepiride on osteoblasts from rat mandibular bone in vitro: Regulation of cytodifferentiation through PI3-kinases/Akt signalling pathway. *Arch Oral Biol.* 2011; 56: 307-16.
  33. Fronczek-Sokół J, Pytlik M. Effect of glimepiride on the skeletal system of ovariectomized and non-ovariectomized rats. *Pharmacol Rep.* 2014; 66: 412-7.
  34. Dormuth CR, Carney G, Carleton B, et al. Thiazolidinediones and fractures in men and women. *Arch Intern Med.* 2009; 169: 1395-402.
  35. Douglas IJ, Evans SJ, Pocock S, et al. The risk

- of fractures associated with thiazolidinediones: a self-controlled case-series study. *PLoS Med.* 2009; 6: e1000154.
36. Feige JN, Gelman L, Michalik L, et al. From molecular action to physiological outputs: peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions. *Prog Lipid Res.* 2006; 45: 120-59.
  37. Willson TM, Brown PJ, Sternbach DD, et al. The PPARs: from orphan receptors to drug discovery. *J Med Chem.* 2000; 43: 527-50.
  38. Michalik L, Auwerx J, Berger JP, et al. International Union of Pharmacology. LXI. Peroxisome proliferator-activated receptors. *Pharmacol Rev.* 2006; 58: 726-41.
  39. Ahmadian M, Suh JM, Hah N, et al. PPAR $\gamma$  signaling and metabolism: the good, the bad and the future. *Nat Med.* 2013; 19: 557-66.
  40. Shockley KR, Lazarenko OP, Czernik PJ, et al. PPAR $\gamma$ 2 nuclear receptor controls multiple regulatory pathways of osteoblast differentiation from marrow mesenchymal stem cells. *J Cell Biochem.* 2009; 106: 232-46.
  41. Johnson TE, Vogel R, Rutledge SJ, et al. Thiazolidinedione effects on glucocorticoid receptor-mediated gene transcription and differentiation in osteoblastic cells. *Endocrinology.* 1999; 140: 3245-54.
  42. Suzawa M, Takada I, Yanagisawa J, et al. Cytokines suppress adipogenesis and PPAR $\gamma$  function through the TAK1/TAB1/NIK cascade. *Nat Cell Biol.* 2003; 5: 224-30.
  43. Akune T, Ohba S, Kamekura S, et al. PPAR $\gamma$  insufficiency enhances osteogenesis through osteoblast formation from bone marrow progenitors. *J Clin Invest.* 2004; 113: 846-55.
  44. Cho E-S, Kim M-K, Son Y-O, et al. The effects of rosiglitazone on osteoblastic differentiation, osteoclast formation and bone resorption. *Mol Cells.* 2012; 33: 173-81.
  45. Rzonca SO, Suva LJ, Gaddy D, et al. Bone is a target for the antidiabetic compound rosiglitazone. *Endocrinology.* 2004; 145: 401-6.
  46. Ali AA, Weinstein RS, Stewart SA, et al. Rosiglitazone causes bone loss in mice by suppressing osteoblast differentiation and bone formation. *Endocrinology.* 2005; 146: 1226-35.
  47. Wang L, Li L, Gao H, et al. Effect of pioglitazone on transdifferentiation of preosteoblasts from rat bone mesenchymal stem cells into adipocytes. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci.* 2012; 32: 530-3.
  48. Seth A, Sy V, Pareek A, et al. Thiazolidinediones (TZDs) affect osteoblast viability and biomarkers independently of the TZD effects on aromatase. *Horm Metab Res.* 2013; 45: 1-8.
  49. Liu L, Aronson J, Lecka-Czernik B. Rosiglitazone disrupts endosteal bone formation during distraction osteogenesis by local adipocytic infiltration. *Bone.* 2013; 52: 247-58.
  50. Sardone LD, Renlund R, Willett TL, et al. Effect of rosiglitazone on bone quality in a rat model of insulin resistance and osteoporosis. *Diabetes.* 2011; 60: 3271-8.
  51. Sorocéanu MA, Miao D, Bai X-Y, et al. Rosiglitazone impacts negatively on bone by promoting osteoblast/osteocyte apoptosis. *J Endocrinol.* 2004; 183: 203-16.
  52. Lazarenko OP, Rzonca SO, Hogue WR, et al. Rosiglitazone induces decreases in bone mass and strength that are reminiscent of aged bone. *Endocrinology.* 2007; 148: 2669-80.
  53. Gallagher EJ, Sun H, Kornhauser C, et al. The effect of dipeptidyl peptidase-IV inhibition on bone in a mouse model of type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 2014; 30: 191-200.
  54. Beck GR, Khazai NB, Bouloux GF, et al. The effects of thiazolidinediones on human bone marrow stromal cell differentiation in vitro and in thiazolidinedione-treated patients with type 2 diabetes. *Transl Res.* 2013; 161: 145-55.
  55. Benvenuti S, Cellai I, Luciani P, et al. Rosiglitazone stimulates adipogenesis and decreases osteoblastogenesis in human mesenchymal stem cells. *J Endocrinol Invest.* 2007; 30: RC26-30.
  56. Gustafson B, Eliasson B, Smith U. Thiazolidinediones increase the wingless-type MMTV integration site family (WNT) inhibitor Dickkopf-1 in adipocytes: a link with osteogenesis. *Diabetologia.* 2010; 53: 536-40.
  57. Mieczkowska A, Baslé MF, Chappard D, et al. Thiazolidinediones induce osteocyte apoptosis by a G protein-coupled receptor 40-dependent mechanism. *J Biol Chem.* 2012; 287: 23517-26.
  58. Wan Y, Chong L-W, Evans RM. PPAR $\gamma$  regulates osteoclastogenesis in mice. *Nat Med.* 2007; 13: 1496-503.
  59. Sottile V, Seuwen K, Kneissel M. Enhanced marrow adipogenesis and bone resorption in estrogen-deprived rats treated with the PPAR $\gamma$  agonist BRL49653 (rosiglitazone). *Calcif Tissue Int.* 2004; 75: 329-37.
  60. Syversen U, Stunes AK, Gustafsson BI, et al. Different skeletal effects of the peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) $\alpha$  agonist fenofibrate and the PPAR $\gamma$  agonist pioglitazone. *BMC Endocr Disord.* 2009; 9: 10.
  61. Krause U, Harris S, Green A, et al. Pharmaceutical modulation of canonical Wnt signaling in multipotent stromal cells for improved osteoinductive therapy. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010; 107: 4147-52.
  62. Grey A, Bolland M, Gamble G, et al. The peroxisome proliferator-activated receptor $\gamma$  agonist rosiglitazone decreases bone formation and bone mineral density in healthy

- postmenopausal women: a randomized, controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 1305-10.
63. Harsløf T, Wamberg L, Møller L, et al. Rosiglitazone decreases bone mass and bone marrow fat. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96: 1541-8.
64. Berberoglu Z, Yazici AC, Demirag NG. Effects of rosiglitazone on bone mineral density and remodelling parameters in Postmenopausal diabetic women: a 2 year follow-up study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010; 73: 305-12.
65. Berberoglu Z, Gursoy A, Bayraktar N, et al. Rosiglitazone decreases serum bone-specific alkaline phosphatase activity in postmenopausal diabetic women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92: 3523-30.
66. Gruntmanis U, Fordan S, Ghayee HK, et al. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist rosiglitazone increases bone resorption in women with type 2 diabetes: a randomized, controlled trial. *Calcif Tissue Int*. 2010; 86: 343-9.
67. Xiao W-H, Wang Y-R, Hou W-F, et al. The effects of pioglitazone on biochemical markers of bone turnover in the patients with type 2 diabetes. *Int J Endocrinol*. 2013; 2013: 290734.
68. van Lierop a H, Hamdy N a T, van der Meer RW, Jonker JT, Lamb HJ, Rijzewijk LJ, et al. Distinct effects of pioglitazone and metformin on circulating sclerostin and biochemical markers of bone turnover in men with type 2 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol*. 2012; 166: 711-6.
69. Kanazawa I, Yamaguchi T, Yano S, et al. Baseline atherosclerosis parameter could assess the risk of bone loss during pioglitazone treatment in type 2 diabetes mellitus. *Osteoporos Int*. 2010; 21: 2013-8.
70. Bilezikian JP, Josse RG, Eastell R, et al. Rosiglitazone decreases bone mineral density and increases bone turnover in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013; 98: 1519-28.
71. Li H, Cui R, Cai H, et al. The effect of thiazolidinediones on bone mineral density in Chinese older patients with type 2 diabetes. *J Bone Miner Metab*. 2010; 28: 77-81.
72. Nybo M, Preil SR, Juhl HF, et al. Rosiglitazone decreases plasma levels of osteoprotegerin in a randomized clinical trial with type 2 diabetes patients. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2011; 109: 481-5.
73. Park JS, Cho MH, Nam JS, et al. Effect of pioglitazone on serum concentrations of osteoprotegerin in patients with type 2 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol*. 2011; 164: 69-74.
74. Glinborg D, Andersen M, Hagen C, et al. Association of pioglitazone treatment with decreased bone mineral density in obese premenopausal patients with polycystic ovary syndrome: a randomized, placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93: 1696-701.
75. Bone HG, Lindsay R, McClung MR, et al. Effects of pioglitazone on bone in postmenopausal women with impaired fasting glucose or impaired glucose tolerance: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013; 98: 4691-701.
76. Grey A, Bolland M, Fenwick S, et al. The skeletal effects of pioglitazone in type 2 diabetes or impaired glucose tolerance: a randomized controlled trial. *Eur J Endocrinol*. 2014; 170: 255-62.
77. Schwartz AV, Sellmeyer DE, Vittinghoff E, et al. Thiazolidinedione (TZD) Use and Bone Loss in Older Diabetic Adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91: 3349-54.
78. Betteridge DJ. Thiazolidinediones and fracture risk in patients with Type 2 diabetes. *Diabet Med*. 2011; 28: 759-71.
79. Habib ZA, Havstad SL, Wells K, et al. Thiazolidinedione use and the longitudinal risk of fractures in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010; 95: 592-600.
80. Meier C, Kraenzlin ME, Bodmer M, et al. Use of thiazolidinediones and fracture risk. *Arch Intern Med*. 2008; 168: 820-5.
81. Aubert RE, Herrera V, Chen W, et al. Rosiglitazone and pioglitazone increase fracture risk in women and men with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2010; 12: 716-21.
82. Bilik D, McEwen LN, Brown MB, et al. Thiazolidinediones and fractures: evidence from translating research into action for diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010; 95: 4560-5.
83. Loke YK, Singh S, Furberg CD. Long-term use of thiazolidinediones and fractures in type 2 diabetes: a meta-analysis. *CMAJ*. 2009; 180: 32-9.
84. Toulis KA, Goulis DG, Anastasilakis AD. Thiazolidinedione use and the risk of fractures. *CMAJ*. 2009; 180: 841-2-3.
85. Hsiao F-Y, Mullins CD. The association between thiazolidinediones and hospitalisation for fracture in type 2 diabetic patients: a Taiwanese population-based nested case-control study. *Diabetologia*. 2010; 53: 489-96.
86. Jones SG, Momin SR, Good MW, et al. Distal upper and lower limb fractures associated with thiazolidinedione use. *Am J Manag Care*. 2009; 15: 491-6.
87. Bazelier MT, Vestergaard P, Gallagher AM, et al. Risk of fracture with thiazolidinediones: disease or drugs? *Calcif Tissue Int*. 2012; 90: 450-7.
88. Zhu Z-N, Jiang Y-F, Ding T. Risk of fracture with thiazolidinediones: an updated meta-analysis of randomized clinical trials. *Bone*. 2014; 68: 115-23.
89. Yaturu S, Bryant B, Jain SK. Thiazolidinedio-

- ne treatment decreases bone mineral density in type 2 diabetic men. *Diabetes Care*. 2007; 30: 1574-6.
90. Borges JLC, Bilezikian JP, Jones-Leone AR, et al. A randomized, parallel group, double-blind, multicentre study comparing the efficacy and safety of Avandamet (rosiglitazone/metformin) and metformin on long-term glycaemic control and bone mineral density after 80 weeks of treatment in drug-naïve type 2 d. *Diabetes Obes Metab*. 2011; 13: 1036-46.
  91. Home PD, Pocock SJ, Beck-Nielsen H, et al. Rosiglitazone evaluated for cardiovascular outcomes in oral agent combination therapy for type 2 diabetes (RECORD): a multicentre, randomised, open-label trial. *Lancet*. 2009; 373: 2125-35.
  92. Mancini T, Mazziotti G, Doga M, et al. Vertebral fractures in males with type 2 diabetes treated with rosiglitazone. *Bone*. 2009; 45: 784-8.
  93. Bray GA, Smith SR, Banerji MA, et al. Effect of pioglitazone on body composition and bone density in subjects with prediabetes in the ACT NOW trial. *Diabetes Obes Metab*. 2013; 15: 931-7.
  94. Grey A, Beckley V, Doyle A, et al. Pioglitazone increases bone marrow fat in type 2 diabetes: results from a randomized controlled trial. *Eur J Endocrinol*. 2012; 166: 1087-91.
  95. Chappard D, Moquereau M, Mercier P, et al. Ex vivo bone mineral density of the wrist: influence of medullar fat. *Bone*. 2004; 34: 1023-8.
  96. Dormandy J, Bhattacharya M, van Troostenburg de Bruyn A-R. Safety and tolerability of pioglitazone in high-risk patients with type 2 diabetes: an overview of data from PROactive. *Drug Saf*. 2009; 32: 187-202.
  97. Nissen SE, Nicholls SJ, Wolski K, et al. Comparison of pioglitazone vs glimepiride on progression of coronary atherosclerosis in patients with type 2 diabetes: the PERISCOPE randomized controlled trial. *JAMA*. 2008; 299: 1561-73.
  98. Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet*. 2006; 368: 1696-705.
  99. Pacheco-Pantoja EL, Ranganath LR, Gallagher JA, et al. Receptors and effects of gut hormones in three osteoblastic cell lines. *BMC Physiol*. 2011; 11: 12.
  100. Kim J-Y, Lee S-K, Jo K-J, et al. Exendin-4 increases bone mineral density in type 2 diabetic OLETF rats potentially through the down-regulation of SOST/sclerostin in osteocytes. *Life Sci*. 2013; 92: 533-40.
  101. Nuche-Berenguer B, Portal-Núñez S, Moreno P, et al. Presence of a functional receptor for GLP-1 in osteoblastic cells, independent of the cAMP-linked GLP-1 receptor. *J Cell Physiol*. 2010; 225: 585-92.
  102. Sanz C, Vázquez P, Blázquez C, et al. Signaling and biological effects of glucagon-like peptide 1 on the differentiation of mesenchymal stem cells from human bone marrow. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010; 298: E634-43.
  103. Nuche-Berenguer B, Moreno P, Esbrit P, et al. Effect of GLP-1 treatment on bone turnover in normal, type 2 diabetic, and insulin-resistant states. *Calcif Tissue Int*. 2009; 84: 453-61.
  104. Nuche-Berenguer B, Lozano D, Gutiérrez-Rojas I, et al. GLP-1 and exendin-4 can reverse hyperlipidic-related osteopenia. *J Endocrinol*. 2011; 209: 203-10.
  105. Ma X, Meng J, Jia M, et al. Exendin-4, a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, prevents osteopenia by promoting bone formation and suppressing bone resorption in aged ovariectomized rats. *J Bone Miner Res*. 2013; 28: 1641-52.
  106. Mabileau G, Mieczkowska A, Irwin N, et al. Optimal bone mechanical and material properties require a functional glucagon-like peptide-1 receptor. *J Endocrinol*. 2013; 219: 59-68.
  107. Raun K, von Voss P, Gottfredsen CF, et al. Liraglutide, a long-acting glucagon-like peptide-1 analog, reduces body weight and food intake in obese candy-fed rats, whereas a dipeptidyl peptidase-IV inhibitor, vildagliptin, does not. *Diabetes*. 2007; 56: 8-15.
  108. Yamada C, Yamada Y, Tsukiyama K, et al. The murine glucagon-like peptide-1 receptor is essential for control of bone resorption. *Endocrinology*. 2008; 149: 574-9.
  109. Sbaraglini ML, Molinuevo MS, Sedlinsky C, et al. Saxagliptin affects long-bone microarchitecture and decreases the osteogenic potential of bone marrow stromal cells. *Eur J Pharmacol*. 2014; 727C: 8-14.
  110. Cusick T, Mu J, Pennypacker BL, et al. Bone loss in the oestrogen-depleted rat is not exacerbated by sitagliptin, either alone or in combination with a thiazolidinedione. *Diabetes Obes Metab*. 2013; 15: 954-7.
  111. Kyle KA, Willett TL, Baggio LL, et al. Differential effects of PPAR- $\gamma$  activation versus chemical or genetic reduction of DPP-4 activity on bone quality in mice. *Endocrinology*. 2011; 152: 457-67.
  112. Glorie L, Behets GJ, Baerts L, et al. DPP IV inhibitor treatment attenuates bone loss and improves mechanical bone strength in male diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2014; 307: E447-55.
  113. Bunck MC, Eliasson B, Cornér A, et al. Exenatide treatment did not affect bone mineral density despite body weight reduction in

- patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2011; 13: 374-7.
114. Bunck MC, Poelma M, Eekhoff EM, et al. Effects of vildagliptin on postprandial markers of bone resorption and calcium homeostasis in recently diagnosed, well-controlled type 2 diabetes patients. *J Diabetes.* 2012; 4: 181-5.
  115. Henriksen DB, Alexandersen P, Hartmann B, Adrian CL, et al. Four-month treatment with GLP-2 significantly increases hip BMD: a randomized, placebo-controlled, dose-ranging study in postmenopausal women with low BMD. *Bone.* 2009; 45: 833-42.
  116. Mabileau G, Mieczkowska A, Chappard D. Use of glucagon-like peptide-1 receptor agonists and bone fractures: A meta-analysis of randomized clinical trials (-1-meta). *J Diabetes* 2014; 6: 260-6.
  117. Su B, Sheng H, Zhang M, et al. Risk of bone fractures associated with glucagon-like peptide-1 receptor agonists' treatment: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Endocrine.* 2014.
  118. Monami M, Dicembrini I, Antenore A, et al. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and bone fractures: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Diabetes Care.* 2011; 34: 2474-6.
  119. Hirshberg B, Parker A, Edelberg H, et al. Safety of saxagliptin: events of special interest in 9156 patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev.* 2013.
  120. Tirmenstein M, Dorr TE, Janovitz EB, et al. Nonclinical toxicology assessments support the chronic safety of dapagliflozin, a first-in-class sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor. *Int J Toxicol.* 2013; 32: 336-50.
  121. Yokono M, Takasu T, Hayashizaki Y, et al. SGLT2 selective inhibitor ipragliflozin reduces body fat mass by increasing fatty acid oxidation in high-fat diet-induced obese rats. *Eur J Pharmacol.* 2014; 727C: 66-74.
  122. Kwon H. Canagliflozin: clinical efficacy and safety. *Endocrinol Metab Drugs Advis Comm Meet 2013* [www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/Drugs/Endocrinol2013](http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/Drugs/Endocrinol2013).
  123. Thrailkill KM, Clay Bunn R, Nyman JS, et al. SGLT2 inhibitor therapy improves blood glucose but does not prevent diabetic bone disease in diabetic DBA/2J male mice. *Bone.* 2016; 82: 101-7.
  124. Ljunggren Ö, Bolinder J, Johansson L, et al. Dapagliflozin has no effect on markers of bone formation and resorption or bone mineral density in patients with inadequately controlled type 2 diabetes mellitus on metformin. *Diabetes Obes Metab.* 2012; 14: 990-9.
  125. Bolinder J, Ljunggren O, Johansson L, et al. Dapagliflozin maintains glycaemic control while reducing weight and body fat mass over 2 years in patients with type 2 diabetes mellitus inadequately controlled on metformin. *Diabetes Obes Metab* 2013.
  126. List JF, Woo V, Morales E, et al. Sodium-glucose cotransport inhibition with dapagliflozin in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2009; 32: 650-7.
  127. Bilezikian JP, Watts NB, Usiskin K, et al. Evaluation of Bone Mineral Density and Bone Biomarkers in Patients With Type 2 Diabetes Treated With Canagliflozin. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016; 101: 44-51.
  128. Kohan DE, Fioretto P, Tang W, et al. Long-term study of patients with type 2 diabetes and moderate renal impairment shows that dapagliflozin reduces weight and blood pressure but does not improve glycemic control. *Kidney Int* 2013.
  129. INVOKANA® (canagliflozin) (package insert). Titusville, NJ: Janssen Pharmaceuticals, Inc. 2013; 1-41.
  130. Watts NB, Bilezikian JP, Usiskin K, et al. Effects of Canagliflozin on Fracture Risk in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016; 101: 157-66.



