

UNIVERZITET CRNE GORE
MEDICINSKI FAKULTET

Emir M. Muzurović

ODGOVOR PARATIROIDNOG HORMONA I
KALCITONINA NAKON KALCIJUMSKE
INFUZIJE KOD PACIJENATA SA
PRIMARNIM HIPERPARATIROIDIZMOM
PRIJE I POSLIJE PARATIROIDEKTOMIJE

- Doktorska disertacija -

Podgorica, 2023. godine

UNIVERSITY OF MONTENEGRO
FACULTY OF MEDICINE

Emir M. Muzurović

PARATHYROID HORMONE AND
CALCITONIN RESPONSE AFTER
CALCIUM INFUSION IN PATIENTS WITH
PRIMARY HYPERPARATHYROIDISM
BEFORE AND AFTER
PARATHYROIDECTOMY

- Doctoral Dissertation -

Podgorica, 2023.

PODACI O DOKTORANDU, MENTORIMA I ČLANOVIMA KOMISIJE

Doktorand

Ime i prezime: Emir Muzurović

Datum i mjesto rođenja: 26. 10. 1981. godine, Bijelo Polje, Crna Gora

Naziv završenog studijskog programa i godina završetka: Medicinski fakultet
Univerziteta Crne Gore, 2007. godine

Mentor:

Prof. dr Snežana Vujošević, redovni profesor, Univerzitet Crne Gore, Medicinski fakultet

Komentor:

Prof. dr Milan Petakov, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Srbija

Komisija za ocjenu podobnosti teze i kandidata:

Prof. dr Milica Martinović, redovni profesor, Univerzitet Crne Gore, Medicinski fakultet

Prof. dr Marina Ratković, redovni profesor, Univerzitet Crne Gore, Medicinski fakultet

Prof. dr Snežana Vujošević, redovni profesor, Univerzitet Crne Gore, Medicinski fakultet

Komisija za ocjenu i odbranu doktorske disertacije:

Prof. dr Aneta Bošković, redovni profesor, Univerzitet Crne Gore, Medicinski fakultet

Prof. dr Snežana Vujošević, redovni profesor, Univerzitet Crne Gore, Medicinski fakultet

Prof. dr Milan Petakov, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Srbija

Prof. dr Milica Martinović, redovni profesor, Univerzitet Crne Gore, Medicinski fakultet

Prof. dr Snežana Pantović, vanredni profesor, Univerzitet Crne Gore, Medicinski fakultet

Datum odbrane: 30.05.2023. godine

Datum promocije:

INFORMATIONS ON DOCTORAL STUDENT, MENTORS AND COMMITTEE MEMBERS

Information on doctoral student

Name and surname: Emir Muzurović

Date and place of birth: 26th October 1981, Bijelo Polje, Montenegro

Name of completed study program and year of graduation: Faculty of Medicine, University of Montenegro, 2007.

Mentor:

Prof. dr Snežana Vujošević, University of Montenegro, Faculty of Medicine

Comentor:

Prof. dr Milan Petakov, University of Belgrade, Faculty of Medicine, Serbia

Thesis and candidate assessment committee:

Prof. dr Milica Martinović, University of Montenegro, Faculty of Medicine

Prof. dr Marina Ratković, University of Montenegro, Faculty of Medicine

Prof. dr Snežana Vujošević, University of Montenegro, Faculty of Medicine

Doctoral dissertation evaluation and defense committee:

Prof. dr Aneta Bošković, University of Montenegro, Faculty of Medicine

Prof. dr Snežana Vujošević, University of Montenegro, Faculty of Medicine

Prof. dr Milan Petakov, University of Belgrade, Faculty of Medicine, Serbia

Prof. dr Milica Martinović, University of Montenegro, Faculty of Medicine

Prof. dr Snežana Pantović, University of Montenegro, Faculty of Medicine

Date of defense: 30.05.2023.

Date of promotion:

Mojoj Elviri, Amaru, Hani i Amiru,

Hvala na razumijevanju

Zahvalan sam mentorki, prof. dr Snežani Vujošević na prijateljstvu i svesrdnoj pomoći tokom mojeg cjelokupnog stručnog i akademskog usavršavanja. Zahvalan sa komentoru, prof. dr Milanu Petakovu na bezrezervnoj podršci na mojem stručnom i naučnom putu.

Veliku zahvalnost dugujem kolektivu Odjeljenja endokrinologije Kliničkog Centra Crne Gore i Centra za patologiju Kliničkog centra Crne Gore koji su sudjelovali u obradi uzoraka korištenih u ovom istraživanju. Takođe se zahvaljujem i kolegama iz Centru za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog Centra Crne Gore, koji su mi bezrezervno pomagali u određenim fazama istraživanja.

PODACI O DOKTORSKOJ DISERTACIJI

Naziv doktorskih studija: Doktorske akademske studije Univerziteta Crne Gore, Medicinski fakultet, Doktorski studijski program: Medicina

Naslov doktorske disertacije: Odgovor paratiroidnog hormona i kalcitonina nakon kalcijumske infuzije kod pacijenata sa primarnim hiperparatiroidizmom prije i poslije paratiroidektomije

Datum prijave doktorske teze: 25.02.2021. godine.

Datum sjednice Senata Univerziteta Crne Gore na kojoj je prihvaćena teza: 21.04.2021. godine.

Rezime/Izvod iz teze:

Uvod: Aktivacija kalcijum (Ca) osjetljivog receptora (CaSR) suprimuje sekreciju paratiroidnog hormona (PTH), dok je sekrecija kalcitonina (CT) stimulisana preko CaSR. Obzirom na česta preklapanja između nivoa PTH i CT kod pacijenata sa primarnim hiperparatiroidizmom (PHPT) i zdravih ispitanika, ispitivanje Ca-indukovene PTH supresije i/ili stimulacije CT je vrlo često bilo predmet istraživanja u smislu dijagnostike i diferencijalne dijagnostike PHPT.

Ciljevi: Istraživanje je sprovedeno sa ciljem evaluacije odgovora PTH i CT tokom kalcijum infuzionog testa (CIT) kod pacijenata sa PHPT prije i nakon paratiroidektomije. Takođe, cilj istraživanja je ispitivanje razlike u odgovoru PTH i CT tokom CIT-a između pacijenata sa adenomom i hiperplazijom paratiroidnih žlijezda (PTŽ).

Metode: U ovu pivotalnu prospektivnu studiju je uključeno 64 pacijenta (44 sa PHPT i 20 zdravih ispitanika, srednje životne dobi 57 [25-79] i 56 [39-74] godina). Svi pacijenti iz PHPT grupe su podvrgnuti paratiroidektomiji. Nedjelju dana prije (PHPT grupa) i mjesec dana nakon paratiroidektomije (PHPT PO [poslije operacije] grupa), pacijentima je urađen

CIT (bolus infuzija Ca gluconata 0.2 ml/kg tjelesne mase [TM]), praćen određivanjem nivoa Ca^{2+} , PTH, i CT u serumu u 0, 1, 2, 3, 5, 8 i 10 minutu.

Rezultati: Supresija serumskog PTH je bila manja kod pacijenata sa PHPT u poređenju sa zdravim ispitanicima (49.82 vs. 64.06%, $p=0.006$), ali je nakon paratiroidektomije supresija PTH bila veća (76.3%, $p<0.001$), u odnosu na zdravu kontrolu. Pacijenti sa PHPT su imali oslabljen sekretorni odgovor CT-a u poređenju sa zdravim ispitanicima, tokom CIT-a (3.1 vs. 8.0-puta porast u odnosu na bazalne vrijednosti, $p<0.001$), ali se nakon paratiroidektomije popravio (5.8-puta porast u odnosu na bazalne vrijednosti). Granične vrijednosti najnižeg dostignutog nivoa PTH (PTHmin) >19.3 ng/l i najvišeg dostignutog nivoa CT-a (CTmax) ≤ 27.5 ng/l tokom CIT-a ukazuju na dijagnozu PHPT (senzitivnost 90.9%, 97.7%, i specifičnost 100%, 75%, redom). Pacijenti sa paratiroidnim adenomom su imali niže nivoe CT-a u serumu u poređenju sa pacijentima sa hiperplazijom, prije i nakon paratiroidektomije (4.5 vs. 6.8 i 5.4 vs. 7.9 ng/l, redom $p=0.008$, $p=0.018$).

Zaključak: Odgovori PTH i CT tokom CIT-a kod pacijenata sa PHPT mogu biti dodatna dijagnostička metoda tokom evaluacije pacijenata sa sumnjom na PHPT. CIT može imati ulogu tokom dijagnostike PHPT, kao i u preoperativnoj diferencijalnoj dijagnostici, tj. predikciji patohistološkog nalaza (adenom ili hiperplazija).

Ključne riječi: paratiroidni hormon, kalcitonin, primarni hiperparatiroidizam, kalcijumski infuzioni test, diferencijalna dijagnoza.

Naučna oblast: Medicina.

Uža naučna oblast: Endokrinologija.

UDK broj:

DATA ON THE DOCTORAL DISSERTATION

Name of doctoral studies: Doctoral academic studies at the University of Montenegro, Faculty of Medicine, Doctoral study program: Medicine

Doctoral thesis title: Parathyroid hormone and calcitonin response after calcium infusion in patients with primary hyperparathyroidism before and after parathyroidectomy

Thesis application date: 25.02.2021.

Thesis acceptance date (UoM Senate Session): 21.04.2021.

Abstract/Thesis Overview:

Introduction: While activation of the calcium (Ca) sensing receptor (CaSR) suppresses parathyroid hormone (PTH) secretion, calcitonin (CT) secretion is stimulated via CaSR. Given the frequent overlap of PTH and CT levels between healthy subjects and patients with primary hyperparathyroidism (PHPT), Ca-induced PTH suppression and/or CT stimulation differs between these groups and whether it is a clinically useful test.

Objectives: The aim of this study is to evaluate the response of PTH and CT during a calcium infusion test (CIT) in patients with PHPT and healthy controls (HCs) and to assess their possible role in the diagnosis of PHPT and the differential diagnosis between PTG adenoma and hyperplasia.

Methods: This pivotal prospective study included 64. patients (44. PHPT patients vs. 20. HCs, median age 57 [25-79] vs. 56 [39-74] years). All PHPT patients underwent parathyroidectomy (PTX). A week before and 1 month after PTX, the CIT was performed (bolus infusion of Ca gluconate 0.2 ml/kg body weight), followed by plasma sampling for Ca^{2+} , PTH, and CT at 0, 1, 2, 3, 5, 8, and 10 min.

Results: PTH suppression was lower in PHPT patients compared to HCs (49.82 vs. 64.06%, $p=0.006$), but after PTX suppression it was higher (76.3%, $p<0.001$). PHPT patients had

attenuated CT response vs. HCs during the CIT (3.1 vs. 8.0-fold increase, $p < 0.001$), but after PTX it improved (5.8-fold increase). The PTHmin > 19.3 ng/l and CTmax ≤ 27.5 ng/l cut-off values predict diagnosis of PHPT (sensitivity 90.9%, 97.7%, and specificity 100%, 75%, respectively). Patients with adenoma had lower basal CT levels vs. hyperplasia both before and after PTX (4.5 vs. 6.8 and 5.4 vs. 7.9 ng/l, respectively $p = 0.008$, $p = 0.018$).

Conclusion: PTH and CT responses during the CIT in PHPT patients may be an additional diagnostic tool, during evaluation of patients suspected on PHPT. The CIT could play a role in both, the diagnosis of PHPT and in the differential diagnosis between adenoma and hyperplasia.

Keywords: Parathyroid hormone, Calcitonin, Primary hyperparathyroidism, Calcium infusion test, Diagnosis, Differential diagnosis.

Scientific field: Medicine.

The branch of scientific field: Endocrinology.

UDC number:

PREDGOVOR

Paratiroidne žlijezde spadaju u grupu žlijezda sa unutrašnjim lučenjem, proizvode paratiroidni hormon koji je primarni regulator ravnoteže kalcijuma. Nakon bolesti tiroidne žlijezde i šećerne bolesti, bolesti paratiroidnih žlijezda i metabolizma kalcijuma predstavljaju treću najčešću grupu endokrinoloških bolesti.

Primarni hiperparatiroidizam je rezultat prekomjernog lučenja paratiroidnog hormona iz jedne ili više paratiroidnih žlijezda. Veoma je čest kod starijih (postmenopauzalnih) žena, dok se u mlađim (generativnim) godinama smatra rijetkom bolešću.

Posljedice pojačane aktivnosti paratiroidnih žlijezda se najčešće manifestuju kroz komplikacije na bubrezima i skeletnom sistemu, mada u manjem obimu mogu biti zahvaćeni i drugi organski sistemi. Kada se govori o bubrežnim komplikacijama, vrlo je bitno istaći nefrolitijazu, kao najklasičniju manifestaciju primarnog hiperparatiroidizma na bubrezima, koja u krajnjem dovodi do terminalne renalne slabosti i hemodijalize. Takođe, smanjenje koštane gustine po tipu osteopenije i osteoporoze sa posljedičnim frakturama predstavlja vrlo značajnu komplikaciju primarnog hiperparatiroidizma na kostima, koje takođe u krajnjem mogu voditi značajnom invaliditetu.

Primarni hiperparatiroidizam se može razviti sporadično, ali može biti i genetski determinisan kada se radi o hereditarnim formama bolesti. Tada se ova bolest može naći i u mlađoj populaciji i zahtijeva mnogo veću pažnju, posebno što može biti samo jedan klinički entitet u sklopu endokrinoloških multitumorskih sindroma.

Poslednje dvije decenije primarni hiperparatiroidizam postaje sve vidljiviji zdravstveni problem i u Crnoj Gori, posebno sa razvojem laboratorijske dijagnostike. To je dovelo do toga da danas primarni hiperparatiroidizam mnogo češće otkrivamo kao asimptomatsku bolest, prije razvoja komplikacija na ciljnim organskim sistemima.

Sve ovo gore navedeno jasno govori da primarni hiperparatiroidizam zahtijeva izrazitu pažnju, posebno što se u blažim oblicima bolesti vrlo teško razlikuje od drugih vrsta hiperparatiroidizama, i što za razliku od njih najčešće zahtijeva drugačiji dijagnostički i

terapijski pristup. Dijagnoza primarnog hiperparatiroidizma se potvrđuje biohemijском procjenom, ali spektar biohemijskih abnormalnosti može otežati postavljanje dijagnoze, i naše istraživanje u tom smislu ima posebnu važnost.

Iz navedenih razloga smo ispitivali dinamiku sekrecije paratiroidnog hormona u stanju hronične hiperkalcijemije (kakvo i jeste najčešće primarni hiperparatiroidizam), kako bi utvrdili specifičnosti koje bi se mogle koristiti kako u dijagnozi tako i u diferencijalnoj dijagnozi primarnog hiperparatiroidizma.

Sledstveno, u našem istraživanju i jesmo uočili promjene dinamike sekrecije paratiroidnog hormona koje se mogu koristiti kao dodatno sredstvo u smislu dijagnoze, kao i u predikciji patohistološkog nalaza (adenoma ili hiperplazije) što je ključno za izbor hirurškog pristupa kod pacijenata sa primarnim hiperparatiroidizmom.

Druga bitna odrednica našeg istraživanja se odnosila na mjesto kalcitonina u primarnom hiperparatiroidizmu. Obzirom na mali fiziološki značaj kalcitonina u homeostazi kalcijuma, ključno mjesto kalcitonina se svodilo do sada na njegovo korištenje kao tumorskog markera kod pacijenata sa medularnim karcinomom tiroidne žlijezde. Obzirom da se navedeni karcinom i primarni hiperparatiroidizam mogu razviti zajedno u sklopu pojedinih multiplih tumorskih sindroma, tj. multiple endokrine neoplazije, vrlo je bitno znati da sekrecija kalcitonina može biti promijenjena u stanju hronične hiperkalcijemije.

Konačno, analizirajući rezultate našeg istraživanja, ukazali smo da se kalcitonin može koristiti u predikciji patohistološkog nalaza kod pacijenata sa primarnim hiperparatiroidizmom, što otvara nove vidike kada je ova bolest u pitanju, ne samo u Crnoj Gori već i šire.

Skraćenice:

- Alb - albumini,
- AUC - „area under the curve“/površina ispod krive,
- Ca - kalcijum,
- Ca²⁺ - jonizovani kalcijum,
- Ca(c) - korigovani kalcijum,
- CaSR - Ca²⁺ "sensing"/osjetljivi receptor,
- CGRP - kalcitonin-gen "related"/vezani peptid,
- CI - "confidence interval"/interval povjerenja,
- CIT - kalcijum infuzioni test
- CNS - centralni nervni sistem,
- CT - kalcitonin,
- CTmax - maksimalna dostignuta vrijednost kalcitonina,
- CTsi - stimulisani porast kalcitonina,
- DNK - deoksiribonukleinska kiselina,
- FHH - familijarna hipokalcemična hiperkalcijemija,
- FGF23 - fibroblastni faktor rasta 23/"fibroblast growth factor",
- FGFR1 - fibroblastni faktor rasta receptor 1,
- HC - „healthy control“/zdrava kontrola,
- HCT - hiperkalcitoninemija,
- HPT - hiperparatiroidizam,
- KT - kompjuterizovana tomografija,
- KV - kardiovaskularni,
- MAPK - „mitogen-activated protein kinase",
- MEN - multipla endokrina neoplazija,
- mRNK - mitohondrijalna ribonukleinska kiselina,
- NMR - nuklearna magnetna rezonanca,
- PET/KT - pozitron emisijna tomografija/kompjuterizovana tomografija,
- Phos - fosfat,
- PHPT - primarni hiperparatiroidizam,

- PO - poslije operacije,
- PTH - paratiroidni hormon,
- PTHmin - minimalna dostignuta vrijednost paratiroidnog hormona,
- PTHsup[%] - procenat supresije paratiroidnog hormona,
- PTŽ - paratiroidne žlijezde,
- RANK - “receptor activator of nuclear factor kappa-B”,
- ROC - “receiver operating characteristic”,
- sHPT - sekundarni hiperparatiroidizam,
- SPEKT/KT - “single photon” emisiona kompjuterizovana tomografija/kompjuterizovana tomografija
- tHPT - tercijarni hiperparatiroidizam,
- TM – tjelesna masa,
- TRPV - “transient receptor potential vanilloid”
- VDR - vitamin D receptor,
- 1,25(OH)₂D - 1,25 dihidroksivitamin D.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Anatomija i embriologija paratiroidnih žlijezda (PTŽ)	1
1.2. Anatomija i embriologija parafolikularnih C-ćelija tiroidne žlijezde.....	3
1.3. Homeostaza Ca	4
1.3.1. PTH.....	6
1.3.1.1. Fiziološke funkcije PTH.....	6
1.3.1.2. Regulacija sekrecije PTH	7
1.3.1.3. Metabolizam PTH	10
1.3.2. CT	10
1.3.2.1. Fiziološke funkcije CT	10
1.3.2.2. Regulacija sekrecije CT	11
1.3.2.3. Metabolizam CT.....	12
1.3.3. Vitamin D	12
1.3.3.1. Fiziološke funkcije vitamina D	13
1.3.3.2. Regulacija sekrecije vitamina D.....	14
1.3.3.3. Metabolizam vitamina D.....	14
1.4. HPT i njegova podjela	15
1.5. PHPT.....	15
1.5.1. Epidemiologija PHPT.....	16
1.5.2. Faktori rizika	17
1.5.3. Patologija.....	19
1.5.3.1. Patološko- morfološke osobine	20
1.5.3.1.1. Makroskopski izgled	20
1.5.3.1.2. Histološka struktura.....	20
1.5.4. Kliničke manifestacije PHPT	21
1.5.5. Kliničke forme PHPT	24
1.5.5.1. Simptomatska forma PHPT.....	25
1.5.5.2. Asimptomatska forma PHPT	25

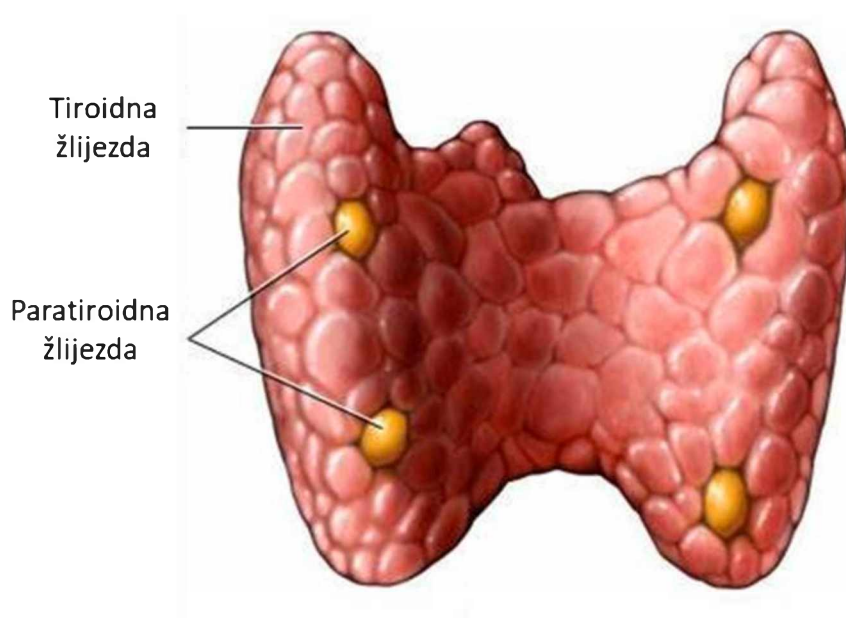
1.5.5.3.	Normokalcijemijska forma PHPT	25
1.5.6.	Dijagnoza PHPT	26
1.5.7.	Diferencijalna dijagnoza PHPT	28
1.5.8.	Terapija PHPT	30
1.6.	Odgovor PTH i CT tokom CIT-a kod pacijenata sa PHPT	32
2.	CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE	36
2.1.	Ciljevi istraživanja	36
2.2.	Hipoteze	37
3.	MATERIJAL I METODE	38
3.1.	Podaci o ispitanicima	38
3.2.	Laboratorijska evaluacija	40
3.2.1.	Ca, Phos i Alb	40
3.2.2.	Jonizovani Ca (Ca^{2+})	40
3.2.3.	Korigovani Ca [Ca(c)]	40
3.2.4.	Ca i Phos u 24h urinu	40
3.2.5.	PTH	41
3.2.6.	CT	41
3.2.7.	CIT	41
3.3.	Statističke metode obrade podataka	42
4.	REZULTATI	44
5.	DISKUSIJA	67
6.	ZAKLJUČCI	77
7.	LITERATURA	79

1. UVOD

1.1. Anatomija i embriologija paratiroidnih žlijezda (PTŽ)

Paratiroidne žlijezde (PTŽ) spadaju u grupu žlijezda sa unutrašnjim lučenjem (1). Smještene su na prednjoj strani vrata, u neposrednoj blizini tiroidne žlijezde ili u gornjem dijelu sredogruda, medijastinumu (1).

PTŽ proizvode paratiroidni hormon (PTH), primarni regulator homeostaze kalcijuma (Ca) (1). Broj PTŽ-a u humanojoj populaciji može biti varijabilan, ali ih ima uobičajeno četiri, dvije gornje PTŽ (najčešće smještene u neposrednoj blizini gornjih polova lijevog i desnog lobusa tiroidne žlijezde) i dvije donje PTŽ (najčešće smještene u neposrednoj blizini donjih polova lijevog i desnog lobusa tiroidne žlijezde) (slika 1) (1).



Slika 1. Anatomsko lokalizacija paratiroidnih žlijezda (PTŽ-a) u odnosu na zadnju stranu tiroidne žlijezde. Izvor: <https://www.toppr.com/ask/en-af/content/concept/parathyroid-gland-201179>, preuzeto 1.10.2022.

Pojedinačne PTŽ su najčešće ovalnog oblika, težine oko 35-40 mg i veličine 3-8 mm u svim dimenzijama, pa ukupna količina paratiroidnog tkiva u humanoj populaciji iznosi od 100 do 200 mg (2).

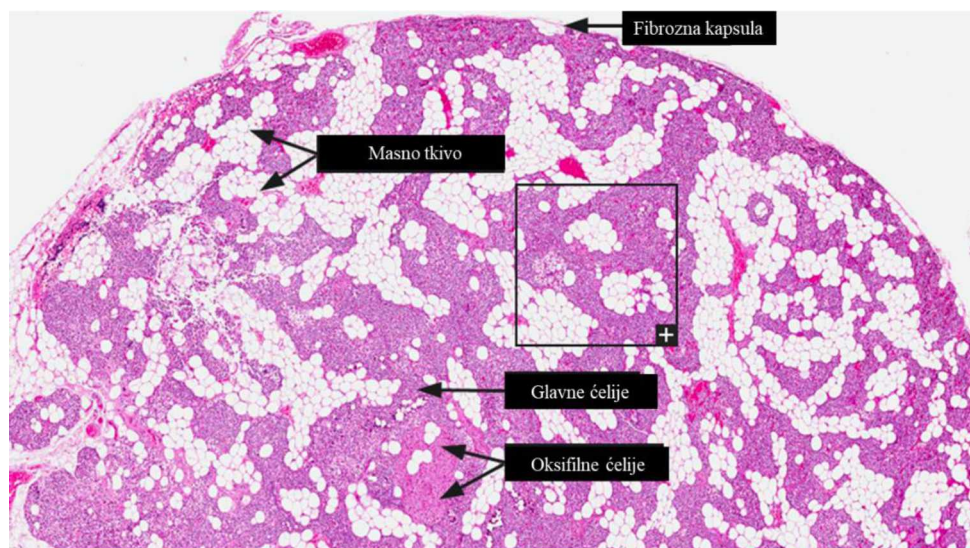
Embriološki, PTŽ migriraju od trećeg i četvrtog škržnog luka ka zadnjoj strani tiroidne žlijezde (3). Gornje PTŽ potiču od četvrtog škržnog luka i imaju embriološki kraći put u odnosu na donje PTŽ. Nakon što gornje PTŽ izgube vezu sa zidom ždrijela, vezuju se za zadnju površinu tiroidne žlijezde sa kojom zajedno migriraju kaudalno (3). Donje PTŽ potiču iz endoderma trećeg škržnog luka i imaju zajedničko porijeklo sa timusom, sa kojim zajedno i migriraju ka svojoj definitivnoj anatomskoj poziciji (3).

Ektopija jedne ili više PTŽ-a je relativno česta (do 16% može biti na ektopičnoj lokaciji), i uključuje anatomske lokalizacije medijastinuma, retroezofagealne oblasti, i druge aberantne lokacije na bočnoj strani vrata (1).

Ektopične gornje PTŽ su posljedica patološkog pomjeranja iz normalnog anatomskog položaja, dok su ektopične donje PTŽ vjerovatno posljedica abnormalne migracije tokom embriogeneze i najčešće se nalaze u prednjem medijastinumu (4). Ektopične gornje PTŽ se najčešće nalaze u traheoezofagealnom žlijebu (43% slučajeva), u retroezofagealnom (22%), posterosuperiornom medijastinalnom (14%), paraezofagealnom (7%) i intratiroidnom položaju (7%), ili uz karotidne arterije (7%) (4).

Ektopične donje PTŽ se najčešće nalaze u prednjem medijastinumu, u vezi sa timusom; druga manje uobičajena mjesta su anterosuperiorni medijastinum (22%), intratiroidna lokacija (15-22%), unutar tireotimskog ligamenta (17%) i rijetko submandibularno (9%) (4).

Tkivo PTŽ je odvojeno od tkiva tiroidne žlijezde fibroznom kapsulom i parenhim se prvenstveno sastoji od dva tipa ćelija, glavnih i oksifilnih ćelija (slika 2). Glavne ćelije PTŽ igraju centralnu ulogu u homeostazi Ca, registruju promjene u ekstracelularnom nivou Ca i oslobađaju odgovarajuću količinu PTH za korekciju ili održavanje normalnog nivoa Ca u serumu (5). Funkcija oksifilnih ćelija nije poznata, ali se vjeruje da bi one mogle biti deaktivirane glavne ćelije i da luče manje PTH (5).



Slika 2. Tkivo PTŽ je odvojeno od tkiva tiroidne žlijezde fibroznom kapsulom. PTŽ imaju dva tipa ćelija, glavne ćelije i oksifilne ćelije. Glavne ćelije su brojnije i imaju okruglo jezgro okruženo malom količinom citoplazme. Oksifilne ćelije su raspoređene u grupama između glavnih ćelija, imaju manje jezgro i eozinofilnu citoplazmu. Izvor: <https://v16.proteinatlas.org/learn/dictionary/normal/parathyroid+gland>, preuzeto 1.10.2022.

Za identifikaciju ćelijskih elemenata koji su karakteristični za tkivo PTŽ se koristi nekoliko imunohistohemijskih bojenja. Normalne PTŽ mogu imati pozitivno bojenje na PTH, neuroendokrine markere hromogranin-A i sinaptofizin, i keratine 7, 8, 18 i 19 (6). Nijedan od ovih markera nije u potpunosti specifičan za PTŽ, tako da mora biti prisutno više njih da bi se identifikovalo paratiroidno tkivo (6).

1.2. Anatomija i embriologija parafolikularnih C-ćelija tiroidne žlijezde

Tkivo tiroidne žlijezde se sastoji od dvije vrste ćelija: folikularnih i parafolikularnih C-ćelija (7). Najveći dio tkiva tiroidne žlijezde sastoji se od folikula, obloženih folikularnim ćelijama.

One su derivati endoderma i luče hormone tetrajodtironin (T4) i manje količine trijodtironina (T3) (7).

Između navedenih folikula tiroidne žlijezde ili rjeđe unutar zida tiroidnih folikula, nalaze se male parafolikularne C-ćelije, koje potiču iz ćelija neuralnog grebena i luče polipeptidni hormon kalcitonin (CT) (7).

Parafolikularne C-ćelije su sporedna komponenta tiroidne žlijezde, i čine manje od 0.1% ćelijske mase u normalnoj žlijezdi (8). Za razliku od ostatka tiroidne žlijezde, parafolikularne C-ćelije potiču iz ultimobronhijalnog tijela, koje nastaje iz četvrte ili pete faringealne kese (8).

Djelovanje CT-a je suprotno djelovanju PTH (9). CT smanjuje serumski Ca smanjivanjem resorpcije kostiju, inhibiranjem osteoklastne aktivnosti i stimulacijom osteoblastne aktivnosti (posredovano receptorima na osteoklastima), kao i sekundarno stimulacijom bubrežnog klirensa Ca (posredovano receptorima na bubrežnim tubularnim ćelijama) (9).

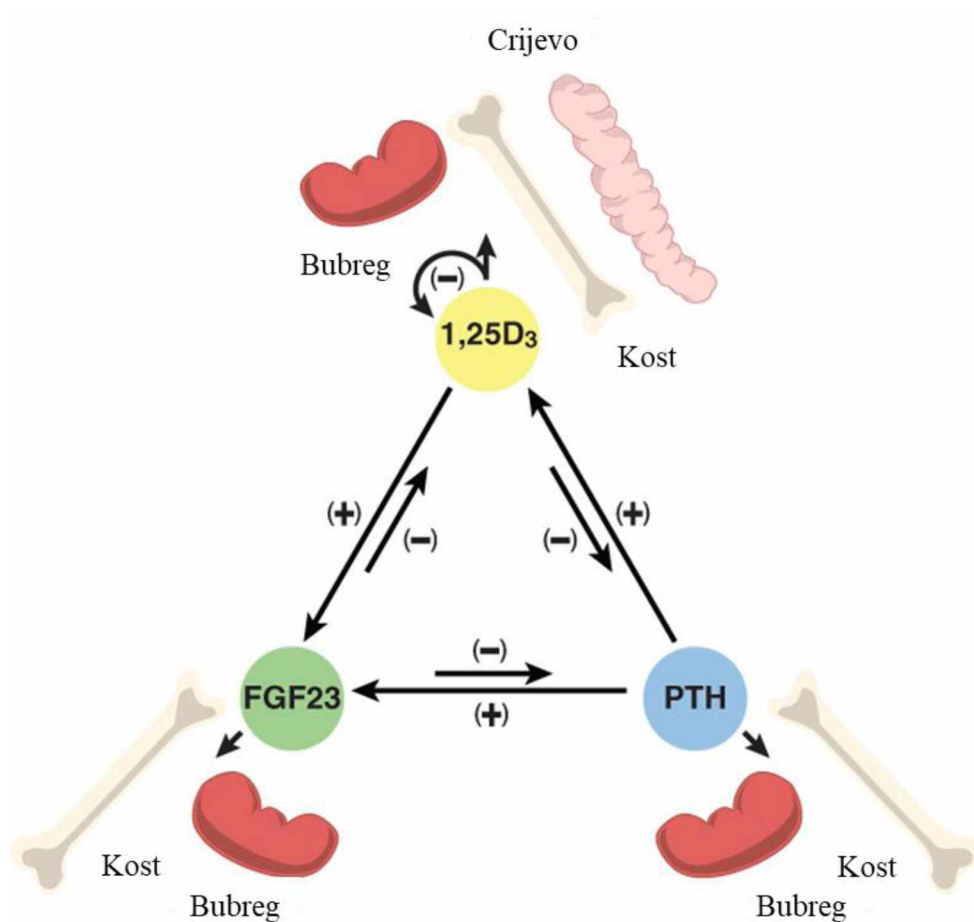
Kada se posmatraju pod elektronskim mikroskopom, parafolikularne C-ćelije su ispunjene gustim sekretornim granulama (100 do 200 nm u prečniku) koje sadrže CT (7).

1.3. Homeostaza Ca

Esencijalni element koji ima važnu ulogu u mineralizaciji skeleta je Ca. Više od 99% Ca u tijelu se nalazi u kostima u vidu hidroksiapatita (10). Ca u sklopu hidroksiapatita obezbeđuje dijelom strukturu skeletu, i uz to je bitan rezervoar za oslobađanje Ca u serumu (10).

Koncentracija jonizovanog Ca (Ca^{2+}) u ekstracelularnoj tečnosti se mora održavati u uskim granicama zbog važne uloge koju Ca ima u mnogim ćelijskim funkcijama (npr. za pravilnu srčanu funkciju, strukturni integritet kostiju, mišićnu kontrakciju i djeluje kao enzimski signal u biohemijskim putevima) (11).

Međusobni odnosi glavnih mineralotropnih hormona, PTH, fibroblastnog faktora rasta 23 (“*fibroblast growth factor*” [FGF23]) i 1,25 dihidroksivitamina D₃, koji dominantno učestvuju u regulaciji Ca u humanoj populaciji, su prikazani na slici 3.



Skraćenice: FGF23, fibroblastni faktor rasta 23 (“*fibroblast growth factor*”); PTH, paratiroidni hormon; 1,25 dihidroksivitamina D₃, 1,25D₃.

Slika 3. Međusobni odnosi PTH, 1,25 dihidroksivitamina D i FGF23. Izvor: <https://researchpad.co/article/doi/10.1002/jbm4.10433>, preuzeto 1.10.2022.

U serumu se Ca može naći u tri oblika:

1) slobodni Ca²⁺ (51% serumskog Ca; tijelo ga koristi za održavanje fizioloških funkcija),

2) Ca vezan za proteine (40% serumskog Ca; ne može se koristiti u tkivima; albumini i globulini su primarni proteini koji vezuju Ca u serumu, dok je kalmodulin primarni protein koji vezuje Ca u ćeliji) i,

3) Ca vezan u kompleksima - helirani Ca (9% serumskog Ca; omogućava da se Ca absorbuje u različitim tkivima i/ili prenosi između dijelova tijela) (10).

Homeostaza Ca se održava djelovanjem hormona koji regulišu transport Ca u crijevima, bubrezima i kostima. Tri ključna hormona za održavanje nivoa Ca su PTH, 1,25 dihidroksivitamin D i FGF23 (10).

1.3.1. PTH

PTH je jednolančani peptid od 84 aminokisjeline, dok je amino-terminalni dio, PTH (1-34), kritičan za fiziološke funkcije PTH (12).

Inicijalno, PTH se sintetise u formi molekula od 115 aminokisjelina, kao prepro-PTH, zatim se smanjuje drugim odvajanjem do molekula od 90 aminokisjelina, kao pro-PTH, prije nego što se sekretuje hormon PTH od 84 aminokisjeline (12).

Primarna funkcija PTH je održavanje nivoa Ca u ekstracelularnoj tečnosti unutar uskog normalnog opsega (12). Proizvodnja PTH je strogo regulisana koncentracijom Ca^{2+} (12).

1.3.1.1. Fiziološke funkcije PTH

PTH djeluje direktno na kosti i bubrege, i indirektno na crijeva kroz svoje efekte na sintezu 1,25 dihidroksivitamina D, i na taj način je PTH direktno odgovoran za povećanje koncentracije serumskog Ca. Ovaj sistem povratnih informacija je kritični homeostatski mehanizam za održavanje Ca u ekstracelularnoj tečnosti (12).

PTH povećava stopu rastvorljivosti minerala u kostima, što vodi oslobađanju Ca u krv (12). Takođe vrši reapsorpciju u glomerulima filtriranog Ca i povećava apsorpciju Ca u crijevima

(12). Osim navedenih akutnih promjena, PTH ima i hronične efekte u vidu povećanja broja i funkcije osteoblasta i osteoklasta (12).

Nasuprot, ukoliko se PTH povremeno primjenjuje tokom više dana, npr. kod osteoporotičnih bolesnika, vodi anaboličkim procesima, tj. ukupnoj izgradnji kosti (13).

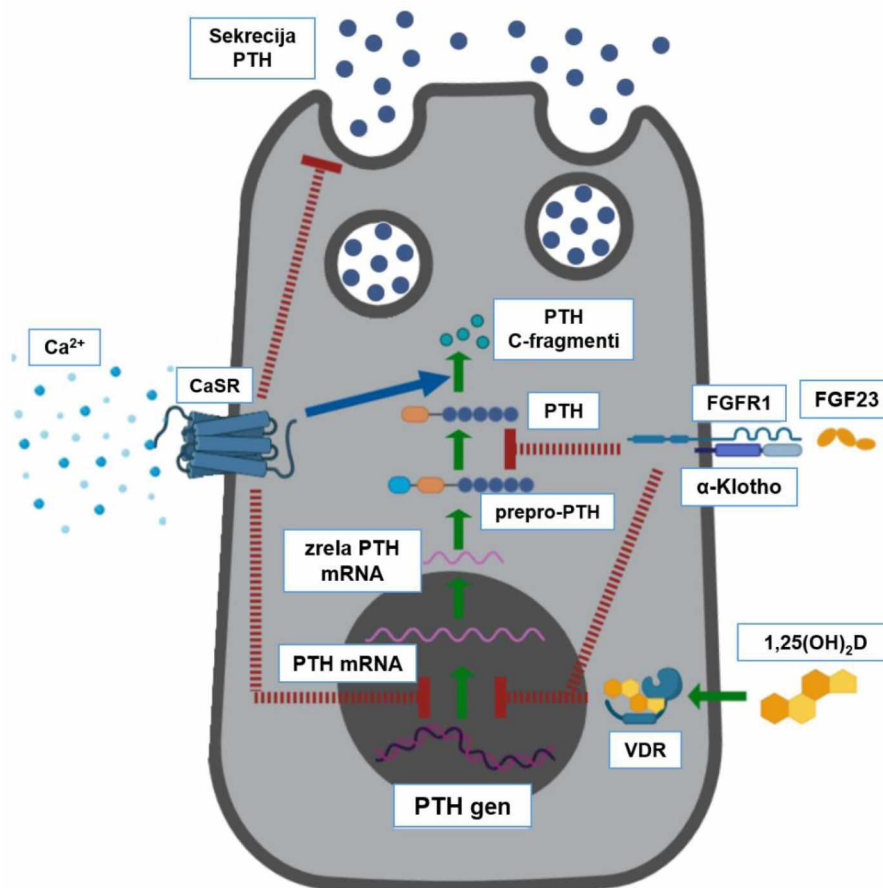
1.3.1.2. Regulacija sekrecije PTH

Glavne paratiroidne ćelije sekretuju PTH u sistemska cirkulaciju, a glavni stimulusi za sekreciju PTH su: 1) nizak nivo Ca^{2+} (preko Ca^{2+} -osjetljivog/"*sensing*" receptora [CaSR]), 2) nizak nivo 1,25 dihidroksivitamina D i, 3) fosfat (Phos) (preko FGF23) (14).

Koncentracija PTH u serumu zavisi od oslobađanja uskladištenog PTH u sekretornim granulama paratiroidnih ćelija i od sinteze novosintetisanog PTH (15).

Sekrecija PTH je regulisana dominantno preko dva receptora glavnih paratiroidnih ćelija: CaSR-a i nukleusnog vitamin D receptora (VDR-a) (slika 4) (16). U normalnim uslovima, porast nivoa Ca^{2+} u serumu, kao i porast nivoa 1,25 dihidroksivitamina D, dovodi do supresije sekrecije PTH, dok hipokalcemija i niži nivoi 1,25 dihidroksivitamina D dovode do pojačane sekrecije PTH, a sve sa razlogom održavanja nivoa Ca^{2+} i Phos unutar fiziološki adekvatnog opsega (slika 4) (16).

FGF23 luče osteociti i osteoblasti kao odgovor na hiperfosfatemiju i 1,25 dihidroksivitamin D (16). FGF23 deluje na kompleks receptora u paratiroidnim žlijezdama kako bi smanjio ekspresiju PTH gena i sekreciju PTH kroz aktivaciju *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) puta (16, 17). Još bitnije, FGF23 djeluje na svoj receptorski kompleks, Klotho-FGF receptor 1 (FGFR1) (forma za spajanje receptora faktora rasta fibroblasta 1), u distalnom zakrivljenom tubulu da bi potisnuo reapsorpciju Phos u proksimalnom tubulu i potisnuo bubrežnu sintezu 1,25 dihidroksivitamina D. Klotho-FGFR1c je takođe izražen u PTŽ (slika 4) (16,17).



Skraćenice: Ca^{2+} , jonizovani kalcijum; CaSR, kalcijum osjetljivi "sensing" receptor; FGF23, fibroblastni faktor rasta 23 ("fibroblast growth factor"); FGFR1, fibroblastni faktor rasta 23 ("fibroblast growth factor") receptor 1; mRNA, mitohondrijalna nbonukleinska kiselina "acid"; PTH, paratiroidni hormon; VDR, vitamin D receptor.

Slika 4. Ekspresija i sekrecija PTH u paratiroidnim ćelijama. PTH se eksprimuje u vidu prepro-PTH nakon čega enzimskom modifikacijom nastaje zreli PTH molekul koji se skladišti u sekretornim granulama, do sekrecije. Sekrecija PTH je regulisana dominantno preko dva receptora: CaSR-a i VDR. FGF23 aktivira FGFR1, heterodimerizovan sa svojim koreceptorom α -Klotho, i inhibira transkripciju PTH mRNA i sazrevanje PTH proteina iz prepro-PTH. Dalje, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ vezuje intracelularni nukleusni VDR i inhibira ekspresiju PTH mRNK. Zelene strelice označavaju ekspresiju PTH, plave strelice označava stimulatívni put, a crvene isprekidane linije označavaju inhibitorne puteve. Izvor: Lombardi G, Ziemann E, Banfi G, et al., 2020 (16).

Nivo PTH u serumu se značajno ne mijenja pri koncentracijama Ca^{2+} u plazmi od oko 1.1-1.2 mmol/l, što odgovara koncentraciji ukupnog Ca u plazmi od 2.2-2.4 mmol/l (“*tačka podešavanja*” Ca^{2+} -PTH) (18). Najčešće, polovina ukupnog Ca je u obliku vezanom za albumine (18).

Sekrecija PTH se naglo povećava do maksimuma (vrijednosti koja je oko pet puta veća od bazalne sekrecije PTH), kada se koncentracija Ca snizi od normalne do raspona od 1.9-2.0 mmol/l (mjereno kao ukupni Ca) (12). Poslije indukcije nagle i trajne hipokalcijemije, koncentracije PTH u plazmi se povećavaju u roku od 1 minuta, dostižu maksimum za 4 do 10 minuta, i nakon toga postepeno opadaju na približno 60% maksimalnog nivoa do 60-og minuta, uprkos prisutnoj konstantnoj hipokalcijemiji (19). Naglo obnavljanje normokalcijemije iz hipokalcijemijskog stanja uzrokuje smanjenje nivoa PTH sa poluživotom od otprilike 3 minuta (19). Nivo serumskog PTH opada sa porastom nivoa Ca^{2+} tokom infuzije Ca-glukonatom i nakon 30 i 120 minuta se suprimuje za oko 76 i 89%, redom, u odnosu na bazalne vrijednosti prije infuzije Ca-glukonata (20)

Brzo oslobađanje PTH iz sekretornih granula u hipokalcemijskim stanjima je modulirano vezivanjem Ca^{2+} za CaSR na glavnim ćelijama, dok je dugoročno dopunjavanje PTH rezervi determinisano *de novo* sintezom mitohondrijalne ribonukleinske kiseline (mRNK) koja kodira PTH za ribozomsku translaciju. u prepro-PTH (slika 4) (21).

Hipokalcijemija takođe usporava stopu degradacije PTH u PTŽ, čime je više PTH dostupno za oslobađanje (22). S druge strane, preko nukleusnog VDR koji je takođe eksprimiran u PTŽ, 1,25 dihidroksivitamin D ima antiprolefektivni efekat na paratiroidne ćelije i suprimuje transkripciju PTH gena (12). Promjene u koncentraciji serumskog Ca^{2+} registruju glavne ćelije preko transmembranskog, “*G protein coupled*” CaSR, i aktivnost receptora dovodi do brzih promjena u PTH sekreciji (19).

Pored svoje uloge u PTŽ, CaSR igra i važnu ulogu u regulisanju reapsorpcije Ca^{2+} u debelom uzlaznom dijelu Henleove petlje, dok se u isto vrijeme inhibira reapsorpcija Phos i izaziva fosfaturija (19).

1.3.1.3. Metabolizam PTH

Proteoliza PTH se dešava dominantno u jetri i bubrezima (12). Periferni metabolizam PTH nije regulisan prema fiziološkim stanjima (visok *versus* nizak Ca, itd.); dakle, periferni metabolizam PTH, iako je odgovoran za brzo uklanjanje izlučenog hormona, izgleda da je visokog kapaciteta, ali metabolički nepromjenljiv katabolički proces (12).

1.3.2. CT

CT je hormon koji se sastoji od 32 aminokisjeline i luče ga parafolikularne C-ćelije tiroidne žlijezde. Sekrecija CT je stimulirana povećanjem nivoa Ca u serumu, i posljedični očekivani efekat je da CT štiti od razvoja hiperkalcijemije (9).

Zbog svoje uloge tumorskog markera u sporadičnim i naslednim slučajevima medularnog karcinoma tiroidne žlijezde, CT ima veoma veliki medicinski značaj (23). Takođe, CT ima trenutni efekat na smanjenje aktivnosti osteoklasta i sekundarno kroz stimulaciju bubrežnog klirensa Ca i koristi se kao dodatni tretman u liječenju veoma izražene hiperkalcijemije u Paget-ovoj bolesti kostiju (24).

CT stimuliše bubrežnu proizvodnju 1,25 dihidroksivitamina D u proksimalnom tubulu na mjestu različitom od mjesta djelovanja PTH i hipofosfatemije (9).

Ipak, klinički nijesu opisane nikakve koštane ili druge abnormalnosti u stanjima nedostatka ili viška CT osim dijareje kod nekoliko pacijenata sa medularnim karcinomom tiroidne žlijezde (9).

1.3.2.1. Fiziološke funkcije CT

CT je ograničenog fiziološkog značaja za ljude, bar kada je u pitanju homeostaza Ca, i samo djelimično djeluje kao fiziološki antagonist PTH (9). Za sada nijesu identifikovani sindromi koji nastaju kao rezultat djelovanja CT u krvi. Već pomenuto, velike količine CT se luče kod

pacijenata sa medularnim karcinomom tiroidne žlijezde, ali one su bez biološkog efekta tj. ne rezultiraju posljedičnom hiperkalcijemijom (25, 26).

Iako velike suprafiziološke doze CT utiču na morfologiju i funkciju osteoklasta, malo je vjerovatno da su ti efekti CT važni u normalnoj fiziologiji osteoklasta i remodeliranju kostiju (26). CT je korišten i za liječenje postmenopauzalne osteoporoze, ali je korist od navedene terapije bila ograničenog značaja (27).

Ipak, postoje dobri razlozi da se vjeruje da CT može biti od značaja za metabolizam Ca. Najvažnije je prisustvo Ca receptora na parafolikularnim C-ćelijama koje regulišu lučenje CT (26). Tokom trudnoće i dojenja su povećani nivoi i CT i 1,25 dihidroksivitamina D (9). Sekreciju CT stimuliše i gastrointestinalni hormon gastrin, što dovodi do daljih razmatranja da bi postprandijalna stimulacija CT-om mogla da igra ulogu i u taloženju Ca i Phos u kostima nakon hranjenja (9, 26, 28). Porast CT i 1,25 dihidroksivitamina D može biti važan u prenosu Ca od majke do fetusa/djeteta, kao i u prevenciji i oporavku gubitka koštanog tkiva kod majke (9).

Na osnovu istraživanja na animalnim modelima, postoje i hipoteze da bi izražena deprivacija vode i/ili elektrolita mogla stvoriti uslove u kojima bi CT mogao štititi i ljude od smrtnog ishoda; ipak eksperimenti koji uključuju uskraćivanje vode ljudima, radi dehidracije, do sada nijesu sprovedeni, kako bi se testirala ova hipoteza (26).

1.3.2.2. Regulacija sekrecije CT

Geni za CT se nalaze na kratkom kraku hromozoma broj 11. Dva gena su odgovorna za transkripciju CT, α i β -gen, i transkripciona kontrola ovih gena je kompleksna (9).

Dvije različite molekule mRNK se prepisuju sa gena α , jedna je prekursor za CT, a druga za alternativni genski produkt CT-gen vezani/”related” peptid (CGRP) (12). Drugi, β - ili CGRP-2 gen se prepisuje u mRNK za CGRP u centralnom nervnom sistemu (CNS); ipak,

ovaj gen ne produkuje CT. Postoje razmatranja da CGRP ima kardiovaskularne (KV) efekte, moguće služi i kao neurotransmiter i/ili ima razvojnu ulogu u CNS-u (12).

Oslobađanje CT iz parafolikularnih C-ćelija je stimulirano povišenim koncentracijama Ca^{2+} , koje preko CaSR stimulišu intracelularnu Ca^{2+} mobilizaciju i oslobađanje CT (29). CaSR je vezan za različite heterotrimernu G proteine uključujući $G_{q/11}$, $G_{i/o}$, and $G_{12/13}$ (29). Dosadašnji rezultati pokazuju da je $G_{q/11}$ ključni za CaSR-posredovano oslobađanje CT. Priroda signalnog puta nishodno od $G_{q/11}$ i aktivacija transkripcije gena je nejasna (29).

1.3.2.3. Metabolizam CT

Bubrezi metabolišu CT kroz glomerularnu filtraciju i/ili kroz put nezavistan od filtracije. Proksimalna tubularna subcelularna mjesta koja mogu degradirati filtrirani CT uključuju četkastu “*brush-border*” membranu, citoplazmu i lizosome, ali ne i bazolateralnu ćelijsku membranu (30).

Glomeruli pokazuju značajnu stopu hidrolize CT i mogu samo dijelom objasniti put metabolizma CT, koji je nezavistan od glomerularne filtracije. Po svemu sudeći, uključeni enzim peptidaza i/ili grupa enzima sposobnih za razgradnju malih polipeptidnih hormona kao što je CT, je visokog kapaciteta i male specifičnosti (30).

1.3.3. Vitamin D

Vitamin D se dijelom proizvodi u koži kao odgovor na ultravioletno zračenje, gdje fotohemijским cijepanjem nastaje vitamin D od 7-dehidroholesterola (12). Takođe, vitamin D se apsorbira i iz hrane (12). Vitamin D iz biljnih izvora je u obliku vitamina D2, dok je onaj iz životinjskih izvora vitamin D3. Ova dva oblika imaju ekvivalentnu biološku aktivnost i aktiviraju ih jednako dobro hidroksilaze vitamina D u humanoј populaciji (12).

Prva hidroksilacija vitamina D se odvija u jetri uz posredovanje enzima *25-hidroksilaze* i nastaje 25 hidroksivitamin D. Završni korak u aktivaciji hormona, 1α -hidroksilacija, događa se u bubrežima, pod uticajem enzima *1\alpha*-hidroksilaze, i nastaje 1,25 dihidroksivitamin D. 1,25 dihidroksivitamin D je glavni steroidni hormon uključen u regulaciju homeostaze Ca^{2+} (31).

1.3.3.1. Fiziološke funkcije vitamina D

Svoje biološke efekte, 1,25 dihidroksivitamin D, ostvaruje preko svog nukleusnog VDR, člana superfamilije nukleusnih receptora. VDR se veže za ciljne deoksiribonukleinske (DNK) sekvence u formi heterodimera sa retinoidnim X-receptorom, regrutujući niz koaktivatora koji modifikuju hromatin, približavaju VDR transkripcionom aparatu i na taj način započinju ekspresiju ciljnog gena (12).

Afinitet nukleusnog VDR za 1,25 dihidroksivitamin D je približno tri puta veći od onog za druge metabolite vitamina D (12).

VDR je eksprimiran u različitim ćelijama i tkivima. 1,25 dihidroksivitamin D je glavni induktor calbindin-a 9K, Ca-vezujućeg proteina eksprimiranog u crijevima, za koji se misli da ima važnu ulogu u aktivnom transport Ca kroz enterocite. Takođe, dva glavna Ca transportera eksprimirana od strane intestinalnog epitela TRPV (*“transient receptor potential vanilloid”*)-5 i TRPV-6, reaguju na vitamin D (32). Indukovanjem ekspresije ovih i drugih gena u tankom crijevu, 1,25 dihidroksivitamin D povećava efikasnost apsorpcije Ca (12).

Takođe, VDR je eksprimiran u osteoblastima i reguliše ekspresiju gena koštanog matriksa osteokalcina i osteopontina, koji su *“upregulated”* sa 1,25 dihidroksivitaminom D, dok je sinteza tipa 1 kolagena suprimovana 1,25 dihidroksivitaminom D (12). PTH i 1,25 dihidroksivitamin D indukuju ekspresiju RANK (*“receptor activator of nuclear factor kappa-B”*) liganda, koji promoviše osteoklastnu diferencijaciju i povećava osteoklasnu aktivnost, vezivanjem za RANK na osteoklasnim progenitorima i zrelim osteoklastima (33).

U PTŽ je takođe eksprimiran VDR, i 1,25 dihidroksivitamin D je pokazao antiproliferativne efekte u paratiroidnim ćelijama i suprimuje transkripciju PTH gena (16). Ovi efekti vitamina D su osnova njegovog korištenja u terapiji sekundarnog hiperparatiroidizma (HPT) koji nastaje kao posljedica hronične bubrežne slabosti (12).

1.3.3.2. Regulacija sekrecije vitamina D

Nakon što vitamin D uđe u cirkulaciju, unutar par sati bude preuzet od strane jetre ili skladišten u tkivima. Vitamin D ulazi u cirkulaciju, bilo da se apsorbuje iz crijeva ili sintetiše u koži, vezan za protein α -globulin (koji se sintetiše u jetri), nakon čega se transportuje u jetru, gdje se podvrgava 25-hidroksilaciji (enzimima sličnim citokromu P450 u mitohondrijima i mikrozomima, uglavnom *CYP2R1*) (34). Aktivnost ove hidroksilaze nije strogo regulisana, a rezultirajući metabolit, 25 hidroksivitamin D je glavni cirkulišući i skladišni oblik vitamina D. Oko 88% 25 hidroksivitamina D cirkuliše vezano za protein koji veže vitamin D, 0.03% je slobodno, a ostatak cirkuliše vezan za albumin. Poluživot 25 hidroksivitamina D je oko 2-3 nedjelje (31).

Kada je 1,25 dihidroksivitamin D neophodan organizmu zbog nedostatka Ca^{2+} ili Phos, 25 hidroksivitamin D se 1α -hidroksilira u bubrezima stvarajući fiziološki aktivni oblik 1,25 dihidroksivitamin D (12). U ćelijama proksimalnih zavijenih tubula je strogo regulisana 25 hidroksivitamin D 1α -hidroksilaza (CYP450-zavisni sistem [*CYP27B1*]); PTH i niski nivoi Phos su glavni induktori ovog enzima, dok njegovu funkciju suprimuju Ca , 1,25 dihidroksivitamin D i FGF23 (12).

1.3.3.3. Metabolizam vitamina D

Regulacija 1,25 dihidroksivitamina D zavisi od ravnoteže između aktivnosti enzima 1α -hidroksilaze i 24-hidroksilaze (31). Oba enzima su strogo regulisana nivoima Ca^{2+} , 1,25 dihidroksivitamina D i Phos u serumu. Glavni put za inaktivaciju metabolita vitamina D

podrazumijeva hidroksilaciju uz pomoć 24-hidroksilaze, enzima koji je eksprimiran u većini tkiva. 1,25 dihidroksivitamin D je glavni induktor ovog enzima; stoga ovaj hormon promoviše svoju inaktivaciju i na taj način ograničava svoje biološke efekte (12).

U uslovima niskih nivoa Ca^{2+} i vitamina D, PTH stimuliše sintezu 1α -hidroksilaze, što vodi povišenju 1,25 dihidroksivitamina D u serumu. PTH takođe inhibira 24-hidroksilazu (35), i može indukovati sintezu FGF23, koji dalje redukuje ekspresiju bubrežnih natrijum-fosfatnih transportera (36). FGF23 može takođe uticati na homeostazu vitamina D tako što suprimuje bubrežnu ekspresiju 1α -hidroksilaze i indukuje 24-hidroksilazu; na taj način redukuje nivoe serumskog 1,25 dihidroksivitamina D i posljedično serumski Ca^{2+} i u hiperfosfatemijskim uslovima (37).

1.4. HPT i njegova podjela

HPT je bolest koju karakteriše prekomjerno lučenje PTH. Dijeli se na:

- 1) primarni HPT (PHPT) - bolest koju u klasičnoj formi karakterišu hiperkalcijemija i povišeni ili neadekvatno normalni nivoi PTH za nivo kalcijemije u serumu;
- 2) sekundarni HPT (sHPT) - stanje u kojem bolest izvan PTŽ uzrokuje povišen nivo PTH u serumu i uvećanje svih PTŽ;
- 3) tercijarni HPT (tHPT) - odnosi se na autonomnu prekomjernu proizvodnju PTH uz razvoj posljedične hiperkalcemije kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom slabošću i već postojećim sHPT (12).

1.5. PHPT

PHPT je čest endokrinološki poremećaj kojeg karakteriše hiperkalcijemija i povišeni ili neadekvatno normalni nivoi PTH (za nivo kalcijemije) i rezultat je prekomjernog lučenja PTH iz jedne ili više PTŽ (38).

PHPT je veoma čest u postmenopauzalnom periodu žena, dok se u mladim (generativnim) godinama smatra rijetkom bolešću (39). Prvi put je opisan prije otprilike 90 godina, gotovo istovremeno u Evropi i u Americi (40).

Od 1970-ih, sa pojavom rutinskog mjerenja serumskog Ca, do danas klinička slika PHPT-a je značajno “evoluirala”. Klinička forma PHPT, sa pridruženom teškom hiperkalcijemijom, “*osteitis fibrosa cystica*”, nefrolitijazom i neuropsihološkim simptomima, koja je nekada bila uobičajena, danas je rijetka (41).

Posljednjih godina je većina pacijenata asimptomatska i ima blagu hiperkalcijemiju, mada mogu imati subkliničke skeletne i bubrežne komplikacije kao što su osteoporoza i hiperkalciurija, kao i prelome kičmenih pršljenova i nefrolitijazu, od kojih oba mogu biti asimptomatska (41).

1.5.1. Epidemiologija PHPT

PHPT se rijetko javlja prije 20-te godina života, prosječna starost oboljelih je skoro 60 godina, tj. najveći broj oboljelih se nalazi u šestoj deceniji života. PHPT se kod žena otkriva 3 do 4 puta češće nego kod muškaraca (42). Polovina svih pacijenata sa PHPT su žene u postmenopauzalnom periodu, iako se poremećaj može pojaviti u bilo kojoj dobnoj skupini (38). PHPT se često dijagnostifikuje u prvom desetljeću nakon menopauze, u skladu s poznatim skeletnim djelovanjem estrogena koje se suprotstavlja hiperkalcijemijskim učincima viška PTH u koštanom tkivu (38).

Procjenjuje se da je godišnja incidencija PHPT oko 30 na 100000 stanovnika, a prevalencija 1 na 1000 stanovnika. Tačnije, incidencija PHPT-a varira od 34 do 120 na 100.000 stanovnika (prosječno 66) među ženama i od 13 do 36 (prosječno 25) među muškarcima (42). Sa starenjem, incidencija se povećava, a polne razlike postaju izraženije (incidencija 12-24 na 100 000 za oba pola kod mlađih od 50 godina; 80 i 36 na 100 000 za žene i muškarce u dobi od 50-59 godina, odnosno 195 za žene i 96 za muškarce u dobi od 70 do 79 godina) (42).

1.5.2. Faktori rizika

Uzrok nastanka sporadičnog PHPT u većini slučajeva nije poznat. Spoljašnje zračenje vrata i terapija litijumom su faktori rizika za razvoj sporadičnog PHPT-a; ipak većina pacijenata ne prijavljuje te izloženosti (43, 44). Hronično nizak Ca^{2+} i prekomjerna tjelesna masa [TM] su takođe nedavno opisani kao faktori rizika (45).

Genetska patogeneza sporadičnog PHPT je nejasna kod većine pacijenata, ali se smatra da su geni koji regulišu ćelijski ciklus važni obzirom na klonsku prirodu sporadičnih paratiroidnih adenoma. PHPT se može pojaviti u sporadičnoj formi (oko 95% pacijenata) ili familijarnoj/hereditarnoj formi, koja je jasno genetski i klinički determinisan entitet (oko 5% pacijenata) (46). Osnovne razlike između sporadičnog i hereditarnog PHPT su prikazane u tabeli 1.

Tabela 1. Osnovne razlike između sporadičnog i hereditarnog PHPT

	Sporadični PHPT	Hereditarni PHPT
Dob	Starije osobe	Mlađe osobe
Patoanatomski supstrat	Najčešće adenom	Najčešće hiperplazija
Učestalost	Oko 80%	Oko 20%
Klinička slika	Česta asimptomatska forma	Varijabilna (zavisí od genetske osnove)
Hirurški pristup	Paratiroidektomija	Varijabilan (zavisí od genetske osnove)

Skraćenice; PHPT, primarni hiperparatiroidizam.

Glavni hereditarni PHPT su prikazani u tabeli 2.

Tabela 2. Hereditarni HPT

Sindrom	Gen	Lokacija gena	Mehanizam
Sindromski HPT			
MEN			
MEN 1	MEN1	11q13	TSG; GF
MEN 2A	RET	10q11.21	PO; PF
MEN 4	CDKN1B	12p13.1	TSG; GF
HPT-JT	CDC73	1q31.2	TSG; GF
Izolovani HPT			
FHH			
FHH tip1	CaSR	3q13.3 - q21.1	PSKTS; GF
FHH tip 2	GNA11	19p13.3	PSKTS; GF
FHH tip 3	AP2S1	19q13.32	PSKTS; GF
Neonatalna teška forma PHPT	CaSR	3q13.3-q21.1	PSKTS; GF
FIHPT			
GCM2	GCM2	6p24.2	PO; PF

Skraćenice: CaSR, Ca osjetljivi/"sensing" receptor; FIHPT, familijarni izolovani hiperparatiroidizam; FHH, familijarna hipokalcijurična hiperkalcijemija; HPT, hiperparatiroidizam; GF, gubitak funkcije; MEN, multipla endokrina neoplazija; PHPT, primarni hiperparatiroidizam; PF, pojačavanje funkcije; PO, proto-onkogen; PSKTS, poremećeni "sensing" kalcijuma ili transdukcije signala; TSG, tumor supresorni gen.

Genetske mutacije su osim kod familijarne forme, opisane i kod sporadične forme PHPT. Familijarna forma PHPT (prenosi se na autozomno-dominantan način) se može javiti bez drugih endokrinoloških poremećaja, ali je najčešće u sastavu multiple endokrine neoplazije (MEN) (47).

Mutacije na lokusu MENIN gena na hromozomu 11q13 odgovorne su za nastanak MEN1; normalan alel ovog gena odgovara definiciji tumorskog supresornog gena (48).

Obzirom na preostalih <5% pacijenata sa porodičnom predispozicijom za razvoj HPT, većina nosi germinalnu liniju mutacija gena za koju je poznato da daje sklonost razvoju tumora PTŽ (navedene u tabeli 2) (46).

1.5.3. Patologija

Uzrok PHPT je jedna ili više hiperfunkcionalnih PTŽ-a. PHPT može u osnovi imati jedan od tri različita patohistološka entiteta: adenom, hiperplaziju ili karcinom PTŽ (38).

Pojedinačna hiperfunkcionalna žlijezda je uzrok PHPT u oko 80% slučajeva; poremećaj obično nastaje usled benigne neoplazije tj. adenoma (38).

U oko 5% slučajeva PHPT nalaze se multipli adenomi, dok su kod otprilike 10-15% pacijenata sa PHPT sve žlijezde hiperfunkcionalne - hiperplazija. Hiperplazija glavnih ćelija PTŽ-a je obično nasledna i često je udružena sa drugim endokrinološkim poremećajima (38). Rijetko, paratiroidni karcinom može biti uzrok PHPT (<1%) (38).

Adenomi PTŽ-a se mogu naći na mnogim neočekivanim anatomskim mjestima, jer embrionalni obrasci migracije paratiroidnog tkiva omogućavaju mnoštvo mogućih lokacija za ektopične PTŽ (41).

Gornje PTŽ potiču od četvrtog škržnog luka, imaju značajno kraći embriološki put od inferiornog para PTŽ, i nakon što se odvoje od faringealnog luka, vežu se za posteriorni dio kaudalno migrirajuće tiroidne žlijezde (3). Donje PTŽ nastaju iz trećeg škržnog luka, endoderma, i imaju slično porijeklo i migraciju kao i timus (3).

Ektopične gornje PTŽ se najčešće nalaze u traheoezofagealnom žlijebu (43% slučajeva) (4). Rjeđe ektopične gornje PTŽ se mogu naći u retroezofagealnom (22%), posterosuperiornom medijastinalnom (14%), paraezofagealnom (7%), intratiroidnom (7%) položaju ili u karotidnom omotaču (7%) (4). Ektopične donje PTŽ najčešće se nalaze u prednjem medijastinumu, zajedno s timusom; druga rjeđa mjesta su anterosuperiorna medijastinalna lokalizacija (22%), intratiroidna lokalizacija (15-22%), unutar tireotimskog ligamenta (17%) i rijetko submandibularno (9%) (4).

1.5.3.1. Patološko - morfološke osobine

1.5.3.1.1. Makroskopski izgled

Adenom je solitarni, benigni, jasno ograničeni inkapsulirani tumor, mrko-braon ili crvenkaste boje, koji je najčešće ovalnog ili okruglastog oblika (49). Prosječna veličina adenoma je oko 15 mm, a težina se kreće od 0.5 do 5 gr. Na presjeku je obično homogene građe ali se mogu naći cistična polja i polja hemoragije (49).

Hiperplastične PTŽ su uobičajeno manje od adenoma. Obično su veće od 5 mm, a manje od 15 mm i lakše od 1 grama (49). Po boji i svojim palpatornim karakteristikama hiperplastične PTŽ se ne razlikuju od adenoma PTŽ (49).

Karcinom je najčešće veliki, nejasno ograničeni tumor, nepravilnog oblika i tvrđe konzistencije; rijetko je manjih dimenzija od 30 mm i lakši od 10 grama (49). Pokazuje lokalni infiltrativni karakter i najčešće infiltrirše okolno mišićno, masno tkivo kao i lobus tiroidne žlijezde sa iste strane. Karcinom je na presjeku homogene građe, sivkasto bjeličaste boje, često su prisutna polja nekroze i krvarenja (49).

1.5.3.1.2. Histološka struktura

Patohistološka analiza paratiroidnog tkiva, u sklopu PHPT, pokazuje izrazite varijacije u histološkoj slici (50).

Adenom je uvijek ograničen vezivnom kapsulom, i građen je od glavnih i/ili oksifilnih ćelija; najčešće su prisutna oba tipa ćelija ili jedna od njih dominira patohistološkom slikom (51). Ćelije su raspoređene u kohezivna polja okružena finom mrežom kapilara (51, 52). Prisutna je laka jedarna atipija i rijetke mitoze. Masno tkivo u stromi nedostaje, kao i značajniji venski sudovi tipični za neizmijenjene PTŽ (51, 52).

Kod hiperplazije PTŽ mikroskopskim pregledom se uočava apsolutno povećanje broja glavnih ćelija, oksifilnih ćelija, rijetkih svijetlih i mješovitih ćelija zajedno sa elementima strome, a koje zahvata uobičajeno sve PTŽ (53). Glavne ćelije su lako uvećane sa povećanim brojem sekretornih granula, mitoze su rijetke, količina masnog tkiva je smanjena ali je ipak prisutna za razliku od adenoma (49).

Kod karcinoma PTŽ je prisutna izražena celularna atipija glavnih ćelija, jer tumorske ćelije pokazuju značajne varijacije u veličini i obliku (53).

Maligne ćelije su lako povećane, cilindričnog oblika raspoređene u nizove i polja i uvijek se uočavaju patološke mitoze (53). Maligne ćelije imaju hiperhromatična jedra i eozinofilnu citoplazmu, između njih su debele fibrozne trake i kapsula tumora se raslojava malignim ćelijama, a histološkim pregledom se može uočiti i infiltracija okolnog masnog i mišićnog tkiva (53).

1.5.4. Kliničke manifestacije PHPT

Klinička prezentacija PHPT varira od asimptomatske bolesti (uobičajeno se uočava u zemljama u kojima je biohemijski skrining rutinski) do klasične simptomatske bolesti u kojoj se jasno uočavaju bubrežne i/ili skeletne komplikacije (54).

Znakovi i simptomi PHPT-a mogu biti posljedica povišenih nivoa Ca *per se*, posebno kada je Ca u serumu iznad 3.0 mmol/l i/ili ako se brzo povećao nivo Ca u serumu (55). Simptomi hiperkalcijemije uključuju poliuriju, polidipsiju, zatvor, anoreksiju, povraćanje, dehidraciju, aritmije i izmijenjeni mentalni status (55).

Ipak, u kliničkom radu se mnogo češće uočavaju simptomi PHPT koji nijesu povezani sa samom hiperkalcijemijom već su posljedice komplikacija na ciljnim organima, najčešće na bubrezima i kostima (55).

Kliničke manifestacije PHPT su prikazane u tabeli 3.

Tabela 3. Kliničke manifestacije PHPT

Organ ili sistem organa	Kliničke karakteristike
Bubreg i urinarni sistem	Nefrokalcinoza Nefrolitijaza Renalna disfunkcija
Koštano-mišićni sistem	Generalizovana osteopenija Subkortikalna resorpcija kostiju Koštane ciste Bolovi u kostima Patološki prelomi Proksimalna mišićna slabost sa hiperrefleksijom Hipotonija mišića Hipotrofija mišića
GI sistem	Peptički ulkus Pankreatitis Opstipacije Gorušica Mučnina Gubitak apetita
KV sistem	Arterijska hipertenzija Hipertrofija lijeve komore Kratak QT interval Produžen PR interval Aritmije Kalcifikacije valvula
Nervni sistem	Mentalni poremećaji Umor Depresija Anksioznost Kognitivni poremećaji Konfuzija Delirijum Koma

Skraćenice: GI, gastrointestinalni; KV, kardiovaskularni.

Kliničke prezentacije PHPT na bubrezima se mogu manifestovati kroz hiperkalciuriju, nefrolitijazu, nefrokalcinozu i/ili kroz smanjenu bubrežnu funkciju (56). U poslednjim godinama su dosta rjeđe jasno vidljive kliničke komplikacije PHPT na bubrezima (55).

Ipak, čak i u blažim biohemijskim formama PHPT, detaljnom sistemskom evaluacijom bubrega se kamenci i/ili nefrokalcinoza mogu naći kod 21 do 55% pacijenata kod kojih se PHPT vodio kao asimptomatska forma bolesti (57, 58).

U uznapredovalim formama PHPT, česta skeletna manifestacija je "*osteitis fibrosa cystica*", koju tipično karakterišu bolovi u kostima, patološki prelomi i proksimalna mišićna slabost sa hiperrefleksijom (59).

Takođe, koštanu zahvaćenost tipično karakterišu "*salt and pepper*" izgled lobanje, koštane erozije i koštane resorpcije falangi, kao i "braon" tumori i ciste (59).

Nasuprot tome, u asimptomatskim formama PHPT, ispitivanjem mineralne koštane gustine, zahvaćenost skeleta se prezentuje smanjenjem mineralne gustine kostiju, posebno kortikalne kosti, koje se najbolje vidi u distalnoj trećini radijusa (54).

Neurokognitivni poremećaji tipa umora, anksioznosti, loše koncentracije, kognitivnog pada i smanjenja kvaliteta života, predstavljaju neke od najneugodnijih kliničkih aspekata PHPT (55).

Navedeni kognitivni poremećaji su prijavljivani sa različitom učestalošću kod pacijenata sa PHPT, što je neke navelo na pitanje da li je terminologija "asimptomatski PHPT" odgovarajuća. Ako se ovi simptomi mogu direktno pripisati PHPT, onda ti pacijenti nijesu asimptomatski (55).

Podaci o KV manifestacijama PHPT nijesu konzistentni, što je dijelom posljedica smanjenja ozbiljnosti bolesti tokom posljednjih nekoliko decenija. Opisan je povećan KV mortalitet kod pacijenata sa srednjom do teškom formom PHPT (60), za razliku od blagih formi PHPT kod kojih se nije značajnije mijenjao KV mortalitet (61, 62).

Povišen krvni pritisak je dugo povezivan sa PHPT; ipak, paratiroidektomija nije vodila normalizaciji krvnog pritiska (60). Hipertrofija lijeve komore je konzistentniji nalaz kroz kompletan spektar težine PHPT i ovaj nalaz je uobičajeno povezan sa povišenim krvnim pritiskom (60).

U blagoj formi PHPT, postoje suptilne KV manifestacije koje se ogledaju u promjenama endotelne funkcije, izraženije vaskularne rezistencije i dijastolnoj disfunkciji (60). Kalcifikacije valvula su izraženije (veća površina zahvaćenosti) u teškim formama PHPT, u odnosu na blage forme bolesti (63).

Povezanost PHPT i aritmija je kompleksna i zahtijeva dalje razjašnjavanje. Hiperkalcijemija u PHPT može indukovati, uz skraćenje QT intervala, i produženje PR intervala i trajanja QRS kompleksa, koji zajedno povećavaju rizik od aritmija i naprasne srčane smrti (64).

Najčešće gastrointestinalne manifestacije PHPT-a su opstipacija, gorušica, mučnina i gubitak apetita koji se javljaju u oko 33%, 30%, 24% i 15% slučajeva, redom (65).

Takođe, vrlo često se navodi i peptički ulkus kao jedna od gastrointestinalnih manifestacija PHPT (66). U nekim ranijim serijama peptički ulkus je verifikovan čak i kod 30% pacijenata sa PHPT (66).

Učestalost akutnog pankreatitisa kod pacijenata sa PHPT je varirala od 1% u nekim (67), pa i do 12% (68) u drugim retrospektivnim serijama. Jacob *i saradnici* (69) su pokazali 28 puta veći rizik od pankreatitisa kod pacijenata sa PHPT u poređenju sa opštom populacijom.

1.5.5. Kliničke forme PHPT

PHPT se može prezentirati kroz tri klinička fenotipa: simptomatski PHPT (forma bolesti sa jasnim zahvatanjem ciljnih organa), asimptomatski PHPT (forma bolesti sa blagom hiperkalcijemijom), i normokalcijemijski PHPT sa povišenim nivoima PTH u serumu uz perzistentno normalne nivoe Ca^{2+} (i/ili korigovanog Ca).

1.5.5.1. Simptomatska forma PHPT

U periodu između 1930 i 1970 godine, PHPT se uopšteno prezentirao simptomatskom formom bolesti sa razvijenim bubrežnim i koštano-mišićnim komplikacijama (55).

Radiološke manifestacije, “*salt and pepper*” izgled lobanje, koštane erozije i koštane resorpcije falangi, “*braon*” tumori i ciste su bile česte (59).

Takođe su bile prisutne i bubrežne komplikacije u vidu bubrežne kalkuloze i nefrokalcinoze, i proksimalna mišićna slabost, na račun oštećene funkcije mišićnih vlakana tipa 2 (70).

1.5.5.2. Asimptomatska forma PHPT

Nakon 1970 godine, široko uspostavljen biohemijski skrining izrodio je asimptomatsku formu bolesti kao dominantnu kliničku formu PHPT.

Budući da je nakon toga PHPT uobičajeno slučajno otkrivan, jasne radiološke karakteristike PHPT su bile značajno rjeđe, a učestalost bubrežne kalkuloze je bila izrazito mala (55). Takođe i slabost proksimalne muskulature više nije bila vidljiva (71).

Bilo je razumno, sa dijagnostičkim sredstvima koja su bila dostupna 1970-ih godina, opisati ove subjekte sa PHPT kao asimptomatske, jer nijesu imali nikakve komplikacije na ciljnim organima, kao ni simptome PHPT (55).

1.5.5.3. Normokalcijemijska forma PHPT

Normokalcijemijski PHPT je opisan u prvoj dekadi 21 vijeka, četiri decenije nakon opisa asimptomatske forme bolesti (72).

Uobičajeno se otkriva u sklopu evaluacije pacijenata sa niskom koštanom gustinom ili jasnom izraženom osteoporozom. Međutim, kada je normokalcijemijski PHPT bio prvi put opisan, nije bio asimptomatski, već je očito bio povezan sa gubitkom koštane mase (55).

Tako, normokalcijemijski PHPT takođe može biti simptomatski i asimptomatski, i ova dva oblika se podudaraju sa dvije tradicionalne forme hiperkalcijemijskog PHPT (55).

Ova tri opisana klinička fenotipa PHPT su slijedila vremenski tok, sa inicijalnim opisom simptomatske forme PHPT, nakon koje je opisana asimptomatska forma PHPT i na kraju, najskorije, normokalcijemijska forma PHPT (55).

Iako je ova istorijska perspektiva važna, bitno je prepoznati da ova tri klinička oblika PHPT postoje istovremeno u današnjem vremenu. Neki autori čak ispravno ističu da su ova tri oblika PHPT uvijek koegzistirala (55).

1.5.6. Dijagnoza PHPT

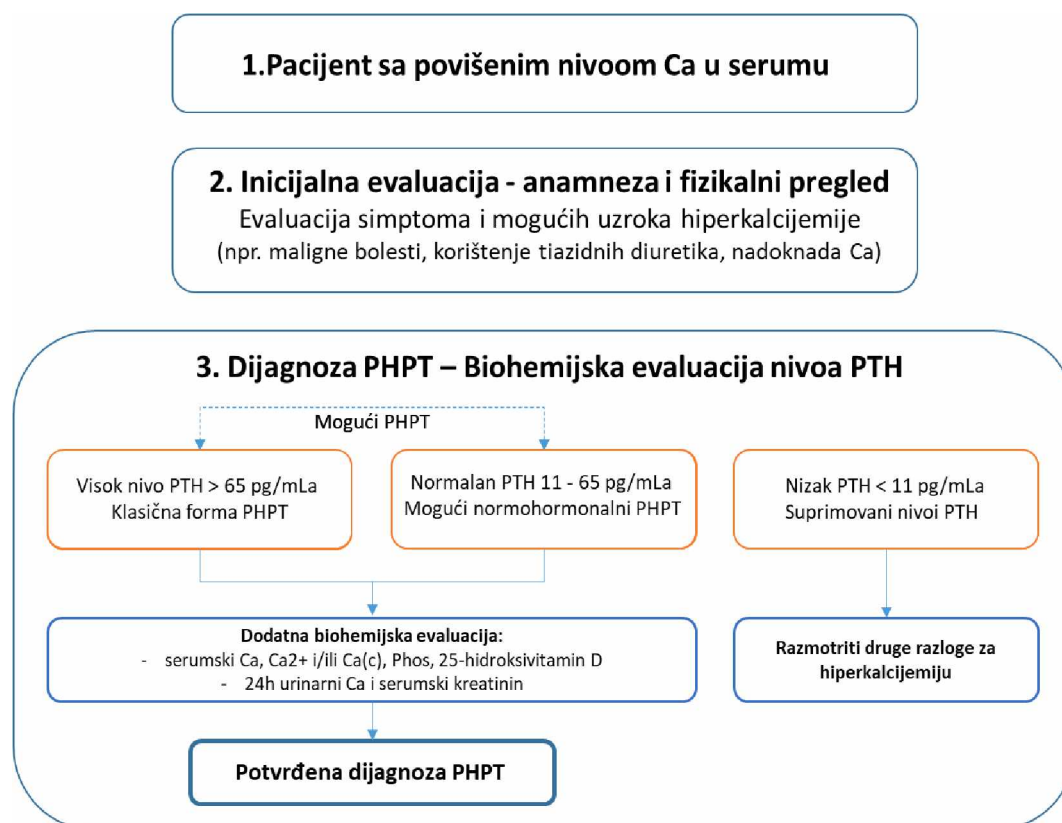
PHPT je najčešći uzrok hiperkalcijemije kod ambulantno pregledanih pacijenata (73). Nakon ponovljene laboratorijske potvrde hiperkalcijemije, potrebno je pažljivo uzeti anamnezu kako bi se procijenili simptomi i potencijalni uzroci hiperkalcijemije. Dijagnoza PHPT se potvrđuje biohemijskom procjenom, ali spektar biohemijskih abnormalnosti može otežati postavljanje dijagnoze (73).

Tokom laboratorijske evaluacije PHPT treba isključiti uzroke sHPT (lijekovi, hiperkalciurija, nedostatak vitamina D, oslabljena funkcija bubrega, malapsorpcija, inflamatorna bolest crijeva, smanjeni dijetarni unos Ca) (74), i tek nakon toga se može pristupiti obradi pacijenta u pravcu PHPT.

U *klasičnoj formi* PHPT-a su povišeni nivoi i Ca i PTH u serumu (73). *Normohormonalni* PHPT je varijanta bolesti koju karakterišu povišeni nivoi Ca u serumu i neadekvatno normalni (nesuprimovani) nivoi PTH u serumu (73). Treća varijanta je *normokalcijemijski* PHPT, karakterišu ga normalni nivoi Ca u serumu uz povišen nivo serumskog PTH, koji u principu može predstavljati preteču klasičnog PHPT, jer dio ovih pacijenata može razviti hiperkalcijemiju tokom vremena (73).

Takođe, bitno je istaći da biohemijski profil u PHPT-u može biti dinamičan. Do 2/3 bolesnika s normohormonalnim PHPT se može privremeno vratiti na normalan profil i do 3/4 pacijenata s klasičnim PHPT može pokazati blaže biohemijsko stanje u nekom trenutku unutar 5 godina (75).

Algoritam za dijagnostiku PHPT je prikazan na slici 5.



Skraćenice: Ca, kalcijum; Ca²⁺, jonizovani kalcijum; Ca(c), korigovani kalcijum; Phos, fosfat; PHPT, primarni hiperparatiroidizam; PTH, paratiroidni hormon.

Slika 5. Algoritam za dijagnostiku PHPT

U slučaju da postoji indikacija za hirurško liječenje PHPT pristupa se vizuelizacionim tehnikama (76). Od metoda lokalizacione dijagnostike kod pacijenata sa PHPT su na raspolaganju neinvazivne i invazivne procedure (76). U neinvazivne procedure, koje se dominantno koriste, spadaju: ultrazvuk PTŽ, kompjuterizovana tomografija (KT) i 4-dimenziona KT, nuklearna magnetna rezonanca (NMR), scintigrafija paraštitastih žlijezda (*“dual wash technetium-99 m sestamibi”*), *“single photon”* emisiona kompjuterizovana tomografija (SPEKT)/KT i ^{18}F -holin/ ^{11}C -metionin pozitron emisiona tomografija (PET)/KT (76). U invazivne procedure, koje se izrazito rijetko koriste, spadaju: aspiraciona biopsija tankom iglom, venska kataterizacija i arteriografija PTŽ (76).

1.5.7. Diferencijalna dijagnoza PHPT

Familijarna hipokalcirična hiperkalcijemija (FHH) je rijetko autozomno dominantno oboljenje. Rezultat je mutacije u genima, koje vode smanjenoj aktivnosti CaSR (77). Pacijenti sa FHH uobičajeno imaju blagu hiperkalcijemiju, hipokalciriju, hipermagnezijemiju i hipofosfatemiju, dok je PTH uobičajeno normalan ili blago povišen (77).

FHH ima sličan biohemijski fenotip kao i PHPT, ali FHH ne zahtijeva hirurško liječenje. FHH je genetski heterogena i čine je tri različite varijante, označene FHH tipovima 1-3, koje su uzrokovane mutacijama *CaSR*, *GNA11* i *AP2S1* gena, redom (74).

Familijarno testiranje ima poseban značaj u FHH jer je to bolest sa porodičnom penetracijom >90% (78). Dakle, pozitivna porodična anamneza je ključna karakteristika, uz testiranje Ca u serumu članova porodice (posebno rođaci u prvoj liniji). Pored porodičnog testiranja, biohemijsko testiranje značajno doprinosi razlikovanju FHH od PHPT-a (74).

Nivo hiperkalcijemije ne omogućava razlikovanje FHH od PHPT, obzirom na izrazite varijacije nivoa Ca u FHH, koji se preklapaju sa vrijednostima u PHPT (79). Iako su nivoi magnezijuma značajno veći u FHH u odnosu na PHPT, uobičajeno su održavaju unutar referentnog opsega u FHH i nijesu korisni za razlikovanje FHH od PHPT (74).

Klasifikacija uzroka hiperkalcijemije je prikazana u tabeli 4.

Tabela 4. Klasifikacija uzroka hiperkalcijemije (12)

I Hiperkalcijemije povezane sa pojačanom sekrecijom PTH
<ul style="list-style-type: none"> A. PHPT B. FHH C. Terapija litijumom
II Hiperkalcijemije povezane sa malignitetima
<ul style="list-style-type: none"> A. Solidni tumori sa metastazama (dojka) B. Solidni tumori sa humoralnom medijacijom hiperkalcijemije (pluća, bubrezi) C. Hematološki maligniteti (multipli mijelom, limfom, leukemija)
III Hiperkalcijemije povezane sa vitaminom D
<ul style="list-style-type: none"> A. Intoksikacija vitaminom D B. Povišen 1,25 dihidroksivitamin D; sarkoidoza i druga granulomatozna oboljenja C. Povišen 1,25 dihidroksivitamin D zbog neadekvatnog metabolizma zbog deficijencije 24-hidroksilaze
IV Hiperkalcijemija udružena sa brzim remodeliranjem kostiju
<ul style="list-style-type: none"> A. Hipertiroidizam B. Imobilizacija C. Tiazidni diuretici D. Intoksikacija vitaminom A E. Masna nekroza
V Hiperkalcijemija udružena sa bubrežnom slabošću
<ul style="list-style-type: none"> A. Jako izražen sHPT B. Intoksikacija aluminijumom C. Mlečno-alkalni sindrom

Skraćenice: FHH, familijarna hipokalcijurična hiperkalcijemija; PHPT, primarni hiperparatiroidizam; PTH, paratiroidni hormon; sHPT, sekundarni hiperparatiroidizam.

Nivoi PTH se preklapaju između FHH i PHPT, međutim koncentracije PTH >2 puta iznad gornje granice normale idu u prilog PHPT (80); prethodno je neophodno korigovanje nivoa vitamina D do adekvatnog nivoa, radi adekvatnog tumačenja nivoa PTH (74).

Frakciona ekskrecija Ca <0,01 (tj. frakcija izlučivanja Ca <1%) se uopšteno smatra adekvatnom skrining metodom za FHH (74), ali takođe ima svoja ograničenja (81).

Genetsko testiranje se preporučuje svim pacijentima sa sumnjom na FHH, radi identifikacije mutacije i potvrde dijagnoze kao i razlikovanja tipova FHH (74).

Litijum, koji se koristi u liječenju bipolarnе depresije i drugih psihijatrijskih poremećaja, uzrokuje hiperkalcijemiju u ~10 % liječenih pacijenata (82). Pretpostavlja se da litijum može mijenjati tačku podešavanja (*“set point”*) CaSR, koji u krajnjem promoviše oslobađanje PTH iz PTŽ (82).

Osim navedenog, nalazi takođe sugerišu da litijum antagonizuje funkciju CaSR, tako što podiže granični nivo Ca u serumu koji je potreban za supresiju produkcije i oslobađanja PTH od strane PTŽ (82). U krajnjem, korištenje litijuma može uzrokovati povišenje nivoa PTH i Ca, biohemijski fenotip karakterističan za PHPT, koji se uobičajeno normalizuje nakon obustavljanja terapije litijumom, te se stoga mora razmatrati u sklopu diferencijalne dijagnoze (82).

PHPT, FHH i HPT uzrokovan litijumom spadaju u PTH-vezane hiperkalcijemije, koje osim povišenih nivoa Ca uobičajeno imaju visoke ili visoko normalne nivoe PTH. Međutim, hiperkalcijemija se sreće i u mnogim drugim poremećajima kod kojih ne postoji autonomna sekrecija PTH od strane PTŽ. Navedeni poremećaji su prikazani u tabeli 4 (12).

1.5.8. Terapija PHPT

Hirurška ekscizija abnormalnog paratiroidnog tkiva, paratiroidektomija, je definitivna terapija za PHPT (83). Operacija je uvijek prikladna kod odgovarajućih kandidata za hiruršku intervenciju koji imaju indikaciju za operativno liječenje (83).

Nasuprot hirurškom liječenju, medikamentozno liječenje se može razmotriti kod pacijenata sa blagom asimptomatskom formom PHPT, kontraindikacijama za paratiroidektomiju ili neuspješnom prethodnom hirurškom intervencijom (12, 84).

Kandidati za paratiroidektomiju su svi pacijenti sa simptomatskim PHPT, ukoliko nema kontraindikacija za operativno liječenje (83).

Za pacijente sa asimptomatskom formom PHPT, prema poslednjim preporukama obavljenim 2014 godine od strane od strane Bilezikiana i saradnika (*“The 4th International Workshop”*), indikovano je operativno liječenje za sve pacijente mlađe od 50 godina, za pacijente sa osteoporozom (koja je verifikovana osteodenzitometrijom), radiološki verifikovanim vertebralnim frakturama, oslabljenom bubrežnom funkcijom i za pacijente sa nivoom Ca više od 0.25 mmol/l iznad gornje granice referentnog opsega (tabela 5) (83).

Tabela 5. Indikacije za paratiroidektomiju kod pacijenata sa PHPT (83).

Nivo Ca u serumu	>0.25 mmol/l iznad gornje granice referentnog opsega
Skeletne komplikacije	Mineralna koštana gustina mjerena osteodenzitometrijom: T skor < -2.5 (lumbalne kičme, kuka ukupno, vrata butne kosti, i/ili distalne 1/3 radijusa)
	Vertebralne frakture verifikovane X-zracima, KT, NMR, ili VMM
Renalne komplikacije	Brzina GF < 60 ml/min
	Ca u 24h urinu > 400 mg/24h
	Prisutna nefrolitijaza ili nefrokalcinoza verifikovana X-zracima, UZ ili KT
Godine	Svi pacijenti mlađi od 50 godina

Skraćenica: Ca, kalcijum; GF, glomerularna filtracija; KT, kompjuterizovana tomografija; NMR, nuklearna magnetna rezonanca; UZ, ultrazvuk; VMM, vertebromorfometrija.

Kada operacija nije indikovana, ili nije medicinski izvodljiva i opravdana, može se razmotriti liječenje medikamentoznom terapijom. Ipak, ukoliko pacijent ne ispunjava indikaciju za paratiroidektomiju, prihvatljiviji je pristup praćenje pacijenta bez intervencije.

Ukoliko se ipak odlučimo za medikamentoznu terapiju (41), onda se mogu koristiti:

- oralni preparati fosfata,
- estrogen ili selektivni modulatori estrogenskih receptora (raloksifen),
- bisfosfonati (npr. alendronat, zolendronska kisjelina),
- denosumab,
- kalcimimetici (cinakalcet),
- hidrohlorotiazid.

Do sada nije bilo dugotrajnog iskustva u pogledu specifičnih kliničkih ishoda kao što je npr. prevencija prijeloma, ali je utvrđeno da antiresorptivna terapija bisfosfonatima značajno povećava mineralnu gustinu kostiju, mijenja nivo serumskog Ca (isto kao i estrogen, ali se estrogen ne favorizuje zbog prijavljenih štetnih efekata na druge organske sisteme) (12). Kalcimimetici s druge strane smanjuju lučenje PTH i snižavaju Ca, ali ne utiču na mineralnu gustinu kostiju (12).

1.6. Odgovor PTH i CT tokom CIT-a kod pacijenata sa PHPT

Kod pacijenata sa PHPT, uprkos uobičajeno povišenim vrijednostima Ca, dodatne akutne varijacije nivoa serumskog Ca mogu uticati na sekreciju PTH od strane PTŽ (85).

Obzirom na preklapanja serumskih nivoa PTH između pacijenata sa PHPT i zdravih osoba, mnogi autori su istraživali da li će Ca-indukovana supresija sekrecije PTH razlikovati ove dvije grupe ispitanika, i da li se može uspostaviti kao koristan test u svakodnevnom kliničkom radu (86-88).

Pitanje paratiroidne autonomije u PHPT je davno otvoreno i bilo je inicijalno interesovanje Broadusa i *saradnika* u njihovim istraživanjima (89). Oni su ispitali uticaj Ca infuzije (12

mg/kg TM/3h) i Ca injekcije (3 mg/kg TM/10 min) na nivo serumskog PTH kod pacijenata sa PHPT (89). Kod kontrolne grupe administracija Ca je rezultirala u malim (13-20%) redukcijama nivoa PTH, dok je kod pacijenata sa PHPT ukazala na nedostatak apsolutne autonomije PTŽ kao odgovor na Ca, sa preklapajućim PTH odgovorima u odnosu na kontrolnu grupu (89). Ovi podaci su sugerisali da se abnormalna supresibilnost PTŽ lako demonstrira čak i kod pacijenata sa suptilnim oblikom poremećaja (89).

Zbog preklapanja vrijednosti PTH u serumu između pacijenata sa PHPT i zdravih ispitanika, Lips *i saradnici* (87) su koristili kratki test stimulacije (intravenozno ordinirana etilendiamintetraacetatna kiselina [EDTA]) i test supresije (oralna doza Ca) za razlikovanje ove dvije grupe ispitanika. Iz sprovedenog ispitivanja su zaključili su da se na osnovu navedenih testova pacijenti sa HPT i zdravi ispitanici mogu u potpunosti odvojiti (87).

Sorensen *i saradnici* (86) su sproveli studiju u kojoj su ispitivali međusobni odnos indukovane hiperkalcijemije i serumskog intaktnog PTH i kod zdravih i kod pacijenata sa PHPT. Uočili su da razlika u paratiroidnoj sekretornoj aktivnosti, nakon stimulacije Ca, može biti korisna u evaluaciji sumnje na PHPT, čak i kod pacijenata sa nivoom PTH koji je u referentnom opsegu (86).

Malberti *i saradnici* (90) su pokazali da je Ca-indukovana regulacija sekrecije PTH abnormalna i u sHPT i u PHPT. Povećanje PTŽ u sHPT-u je povezano sa smanjenom osjetljivošću na Ca^{2+} u serumu i rezistencijom PTŽ-a na Ca-uzrokovanu supresiju sekrecije PTH (90).

Cetani *i saradnici* su u svojoj studiji (91) pratili ekspresiju CaSR imunohistohemijski i tačku podešavanja ("set point") PTH- Ca^{2+} kod pacijenata sa PHPT. Na osnovu svojih rezultata su istakli da je regulacija PTH sekrecije, koja je posredovana preko CaSR, promijenjena najviše zbog znatne redukcije ekspresije CaSR koja vodi promjenama tačke podešavanja PTH- Ca^{2+} (91).

Ispitivanjem senzitivnosti membranskog CaSR su se bavili i Hagag *i saradnici* (88). Ca^{2+} može smanjiti sekreciju PTH putem proteinske kinaze C u hiperplaziji PTŽ. Rezultati njihove

studije su pokazali da test može razlikovati pacijente sa sporadičnom difuznom hiperplazijom od osoba sa solitarnim adenomom u slučajevima PHPT sa indikacijom za operaciju (88).

Budući da je CT hipokalcijemijski hormon, njegova uloga i značaj u PHPT nijesu dovoljno istraženi. Dosadašnja literatura vezana za bazalnu i stimulisanu sekreciju CT-a kod pacijenata sa PHPT je izrazito rijetka. Inicijalne studije su pokazale da pacijenti sa PHPT imaju kompenzatorno povišene nivoe CT u plazmi (92).

Takođe, neki pacijenti sa hiperkalcijemijom koja nije uzrokovana HPT-om imaju visoke vrijednosti bazalnog serumskog CT (93, 94).

Postoje takođe podaci da značajan broj pacijenata sa PHPT ima istovremenu hiperplaziju parafolikularnih C-ćelija (oko 36%) (95).

Rezultati radova koji su evaluirali nivoe CT u serumu kod pacijenata sa PHPT su bili različiti. Neki su prikazali normalne bazalne vrijednosti CT kod skoro svih pacijenata sa PHPT (96-98), dok su drugi prikazali visoke srednje vrijednosti CT (93, 99).

Ispitivan je i gradijent CT između tiroidne vene i periferije kod pacijenata sa PHPT; jedna grupa autora nije našla povišen navedeni gradijent (96), dok druga jeste (93).

Očekivan fiziološki odgovor parafolikularnih C-ćelija tiroidne žlijezde, na porast nivoa Ca u serumu, je povišena sekrecija CT u krvi (99). Poznato je da infuzija Ca stimuliše sekreciju CT kod zdravih osoba (99-102), što ukazuje da je jedna od najbitnija funkcija CT da se bori protiv hiperkalcijemije.

Nasuprot navedenim rezultatima, neki autori su zaključili da visoki nivoi CT kod pacijenata sa hiperkalcijemijom nijesu sugestibilni za PHPT (103).

Različite studije su ukazale da hronična hiperkalcijemija može voditi depleciji CT u serumu kao i depleciji sadržaja CT u parafolikularnim tiroidnim C-ćelijama (104-108). U hroničnim hiperkalcijemijskim stanjima smanjuje se reaktivnost C-ćelija na dodatna akutna povišenja nivoa Ca u serumu (109).

Kubler *i saradnici* su u svom radu pokazali da postoji negativna korelacija između visokih nivoa PTH i niskih nivoa CT, stavljajući akcenat na činjenicu da visoki nivoi serumskog PTH mogu snižavati nivoe CT u serumu, ali mehanizmi za navedeni efekat nijesu dovoljno jasni (110).

Neki nedavni podaci takođe sugerišu da postojanje hiperkalcitonemije kod pacijenata sa PHPT može sugerisati postojanje multiple endokrine neoplazije (MEN) 2A (107, 108, 110, 111).

Rijetko su rađena istraživanja koja su imala za cilj da evaluiraju značaj Ca-stimulisanih vrijednosti CT i PTH u razlikovanju različitih tipova HPT, kao i o njihovoj ulozi u predikciji patohistološkog nalaza kod pacijenata sa PHPT (88, 106, 112). Lambert *i saradnici* su pokazali da je CT odgovor parafolikularnih C-ćelija, nakon Ca infuzije kod pacijenata sa PHPT, normalan do smanjen i da se pojačava nakon paratireoidektomije (113). U PHPT dolazi do pomjeranja tačke setovanja sekrecije CT “na gore”, u zavisnosti od nivoa Ca (113).

Obzirom da su rezultati navedenih studija dijelom dvosmisleni i da se nivoi PTH i CT između pacijenata sa PHPT i zdravih ispitanika preklapaju, u našem istraživanju smo evaluirali odgovor PTH i CT nakon brze Ca infuzije i kod pacijenata sa PHPT i kod zdravih ispitanika, i procijenili smo njihovu moguću ulogu u dijagnozi PHPT-a i u diferencijalnoj dijagnozi između adenoma i hiperplazije PTŽ.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE

2.1. Ciljevi istraživanja

U skladu sa svim što je izloženo u uvodu, ciljevi našeg istraživanja su:

- 1) ispitivanje stepena povezanosti između Ca^{2+} , PTH i CT u bazalnim uslovima i tokom vremena CIT-a, prije i poslije paratiroidektomije kod pacijenata sa PHPT;
- 2) ispitivanje sekretornog odgovora PTH na akutno povećanje nivoa Ca u serumu, tokom brze Ca infuzije, kod pacijenata koji su izloženi hroničnoj hiperkalcijemiji u PHPT, u odnosu na zdrave ispitanike;
- 3) ispitivanje sekretornog odgovora CT-a na akutno povećanje nivoa Ca u serumu, nakon brze Ca infuzije, kod pacijenata koji su izloženi hroničnoj hiperkalcijemiji u PHPT, u odnosu na zdrave ispitanike;
- 4) ispitivanje razlike u PTH odgovoru između pacijenata sa PHPT, prije i poslije paratiroidektomije, i odgovora u grupi kontrolnih ispitanika (zdrava kontrola);
- 5) ispitivanje razlike u CT odgovoru između pacijenata sa PHPT, prije i poslije paratiroidektomije, i odgovora u grupi kontrolnih ispitanika (zdrava kontrola);
- 6) ispitivanje razlika između bazalnih nivoa PTH kod PHPT pacijenata sa adenomom i PHPT pacijenata sa hiperplazijom, kao i ispitivanje razlika nivoa PTH tokom ispitivanih vremena CIT-a kod PHPT pacijenata sa adenomom i PHPT pacijenata sa hiperplazijom;
- 7) ispitivanje razlike između bazalnih nivoa CT kod PHPT pacijenata sa adenomom i PHPT pacijenata sa hiperplazijom, kao i nivoa CT tokom ispitivanih vremena CIT-a kod PHPT pacijenata sa adenomom i PHPT pacijenata sa hiperplazijom;
- 8) određivanje graničnih (*“cut off”*) vrijednosti za PTHmin (najniži dostignuti nivo PTH) tokom CIT-a, u cilju dijagnostike PHPT;
- 9) određivanje graničnih (*“cut off”*) vrijednosti za CTmax (najviši dostignuti nivo CT) tokom CIT-a, u cilju dijagnostike PHPT.

2.2. Hipoteze

Ispitivanjem stimulisanih vrijednosti CT i PTH tokom CIT-a kod pacijenata sa PHPT očekujemo da damo naučni doprinos u razumijevanju homeostaze Ca i dinamike sekrecije PTH i CT u uslovima hronične hiperkalcijemije kod pacijenata sa PHPT. U skladu sa tim postavili smo sljedeće hipoteze:

H1: kod pacijenata sa PHPT stepen suprimovanja sekrecije PTH, tokom CIT-a je manji u poređenju sa zdravim ispitanicima;

H2: kod pacijenata sa PHPT sekretorni odgovor CT tokom CIT-a je atenuiran u odnosu na zdrave ispitanike;

H3: stepen supresije PTH tokom CIT-a je izraženiji nakon paratireoidektomije hiperfunktionalne PTŽ kod pacijenata sa PHPT, u poređenju sa zdravim ispitanicima;

H4: nakon paratiroidektomije hiperfunktionalne PTŽ, kod pacijenata sa PHPT, odgovor CT se oporavlja do nivoa kao kod zdravih ispitanika.

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Podaci o ispitanicima

Ispitivanje je sprovedeno na Odjeljenju endokrinologije Interne klinike Kliničkog Centra Crne Gore. Istraživanje je odobreno od strane komisije za ocjenu podobnosti teme doktorske disertacije Medicinskog fakulteta Univerziteta Crne Gore i Senata Univerziteta Crne Gore.

U istraživanju je bilo uključeno 64 pacijenta, starijih od 18 godina, podijeljenih u dvije grupe:

1) PHPT grupa - 44 pacijenta sa dijagnozom PHPT i,

2) HC („*healthy control*“ - zdravi ispitanici) grupa - 20 zdravih ispitanika prilagođenih prema starosnoj dobi i polu.

U PHPT grupu je bilo uključeno 11 pacijenata muškog pola i 33 pacijenta ženskog pola, srednje životne dobi 57 (25-79) godina. U kontrolnoj HC grupi je bilo uključeno 5 osoba muškog pola i 15 osoba ženskog pola, srednje životne dobi 56 (39-74) godina. Demografske karakteristike (starosna i polna zastupljenost) PHPT i HC grupe su prikaze u tabeli 6.

Tabela 6. Demografske karakteristike PHPT i HC grupe

	HC grupa (n=20) (median [min, max])	PHPT grupa (n=44) (median [min, max])	p
Starost (godine)	56 (39-74)	57 (25-79)	0.632
Pol (M/Ž)	5/15 (25/75%)	11/33 (25/75%)	1.0

Skrćenice: HC, zdrava kontrola („*healthy control*“); M, muškarci; PHPT, primarni hiperparatiroidizam; Ž, žene.

Svi pacijenti iz PHPT grupe su imali indikaciju za operativno liječenje (paratiroidektomiju) prema važećim preporukama (83), i sprovedena je lokalizaciona dijagnostika, scintigrafija

PTŽ-a (“*dual wash technetium-99 m sestamibi*”) sa “*single photon*” emisijom kompjuterizovanom tomografijom (SPEKT)/kompjuterizovanom tomografijom (KT).

U daljem toku, kod svih pacijenata iz PHPT grupe je sprovedeno operativno liječenje, minimalno invazivna paratiroidektomija, uz obostranu eksploraciju vrata kod pacijenata kod kojih je to bilo potrebno. Nakon hirurškog liječenja operisano paratiroidno tkivo je upućeno na patohistološku verifikaciju, i dijagnoza PHPT je potvrđena patohistološkim nalazom (adenom *versus* hiperplazija PTŽ; u ispitivanoj PHPT grupi nije bilo pacijenata sa paratiroidnim karcinomom).

Kriterijumi isključivanja prije i poslije paratiroidektomije su prikazani u tabeli 7.

Tabela 7. Kriterijumi isključivanja iz istraživanja prije i poslije paratiroidektomije

Prije paratiroidektomije	Poslije paratiroidektomije
1) prisutna tiroidna bolest (nodularna bolest TŽ, sumnja na medularni ili papilarni karcinom TŽ, hronični autoimuni tireoiditis),	1) postojanje potrebe za suplementacijom preparatima Ca i vitamina D duže od nedjelju dana nakon paratiroidektomije.
2) lijekovi koji mogu uticati na nivo serumskog CT (omeprazol, kortikosteroidi, beta blokatori, glukagon itd.),	
3) prisutni neuroendokrini tumori,	
4) oštećenje bubrežne funkcije (procijenjena brzina glomerularne filtracije (pGFR) <90 ml/min/1.73m ² , prisutna mikro- ili makroalbuminurija),	
5) nivo vitamina D ispod donje granice referentnog opsega,	
6) trudnoća i laktacija,	
7) lična ili familijarna istorija MEN i	
8) pacijenti sa poznatom bolešću KV ili respiratornog sistema.	

Skraćenice: CT, kalcitonin (“*calcitonin*”); pGFR, procijenjena glomerularna filtracija; KV, kardiovaskularnog; MEN, multipla endokrina hiperplazija, TŽ, tiroidna žlijezda.

Nakon operativnog liječenja pacijenti iz grupe PHPT (*PHPT PO* [poslije operacije] grupa) su opet podvrgnuti laboratorijskim testiranju u bazalnim uslovima i ponovljen im je CIT.

3.2. Laboratorijska evaluacija

Nakon ispunjavanja uslova za uključivanje u istraživanje, pacijentima je urađena laboratorijska evaluacija. Uzorci krvi za određivanje laboratorijskih analiza su uzimani:

- 1) u bazalnim uslovima, natašte ujutru između 07^h30 i 08^h00, nakon cjelonoćnog gladovanja, 12h nakon poslednjeg obroka i to sljedeće laboratorijske analize: Ca, Ca²⁺, Phos, albumini [Alb], PTH i CT, kao i kalciurija i fosfaturija u 24h urinu,
- 2) tokom sprovođenja CIT-a.

3.2.1. Ca, Phos i Alb

Nivoi Ca, Phos i Alb su određivani spektrofotometrijskom metodom (Cobas 6000 Roche, Basel, Švajcarska: referentne vrijednosti 2.15-2.65 mmol/l, 0.8-1.55 mmol/l, i 34-55 g/l, redom).

3.2.2. Jonizovani Ca (Ca²⁺)

Nivo Ca²⁺ je određivan direktnom potenciometrijom sa jon-selektivnim elektrodama (9180 Roche, referentna vrijednost 1.12-1.32 mmol/l).

3.2.3. Korigovani Ca [Ca(c)]

Ca(c) je izračunavan uz pomoć sljedeće formule:

$$\text{Ca(c) (mmol/l)} = \text{Ca} - (\text{Alb} - 40) \times 0.02.$$

3.2.4. Ca i Phos u 24h urinu

Ca i Phos u 24h urinu su mjereni fotometrijskom metodom (Roche C501, referentna vrijednost 2.5-7.5 mmol/24h i 13-42 mmol/24h, redom).

3.2.5. PTH

Serumske koncentracije PTH su određivane imunohistometrijskim esejom (ICMA, Cobas e411, Roche Diagnostics, referentna vrijednost 15-65 ng/l).

3.2.6. CT

Serumske koncentracije CT su određivane imunoradiometrijskim esejom (IRMA-HCT; Automatic Gamma Counter, referentna vrijednost 0-10 ng/l).

Hiperkalcitoninemija (HCT) je definisana bazalnom vrijednošću većom od 10 ng/l.

3.2.7. CIT

CIT je urađen svim ispitivanim pacijentima iz PHPT grupe u dva navrata (nedjelju dana prije paratiroidektomije i mjesec dana nakon paratiroidektomije [PHPT PO grupa]) i zdravim ispitanicima, iz HC grupe (odmah nakon laboratorijske evaluacije u bazalnim uslovima).

Dvije nedjelje prije CIT-a su obustavljani lijekovi koji su mogli uticati na nivo Ca u serumu, ukoliko bi ih pacijenti uzimali. Navedeno je podrazumijevalo isključivanje iz terapije sljedećih grupa farmakoloških agenasa:

- vitamin D,
- CT,
- selektivni modulatori estrogenskih receptora,

- soli Ca i Phos,
- Ca antagonisti,
- diuretici,
- estrogen i
- litijum.

Pacijenti uključeni u naše istraživanje takođe prethodno nijesu uzimali antiresorptivne lijekove iz grupe bisfosfonata, kao ni denosumab.

CIT je u našem istraživanju podrazumijevao ordiniranje brze infuzije 10% Ca-glukonata 0.2 ml/kg TM tokom 30 sekundi [10 ml Ca-glukonata 2.25 mmol=90 mg Ca^{2+} ; Calcium-Sandoz®10%, Novartis Pharma Stein AG, Stein, Switzerland]), uz određivanje nivoa Ca^{2+} , PTH i CT u nultom minutu (0') (vrijeme počinjanja testa, prije brze infuzije Ca), kao i u prvom (1'), drugom (2'), trećem (3'), petom (5'), osmom (8') i desetom (10') minutu nakon brze infuzije Ca. Neželjene reakcije nijesu bile uočene tokom CIT-a.

PTHmin predstavlja najniži postignuti nivo PTH tokom CIT-a, dok *CTmax* predstavlja najviši postignuti nivo CT tokom CIT-a.

Procenat PTH supresije (*PTHsup*[%]) je računat uz pomoć formule:

$$PTHsup (\%) = 1 - (PTHmin/PTH 0' \times 100).$$

Stimulisani porast CT (*CTsi*) je računat uz pomoć formule:

$$CTsi = CTmax/CT 0'.$$

3.3. Statistički metod obrade podataka

Za statističku obradu podataka su korišteni *SPSS Inc. Released 2008. SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. Chicago, USA: SPSS Inc.* i softver *MedCalc version 12.4.0.0*

(*MedCalc Software, Mariakerke, Belgium*). Kvantitativne varijable su prikazane kao medijana (minimum, maksimum). Korišteni su i neparametrijski statistički testovi. Nominalne varijable su prikazane kao frekvencije. Razlike između dvije nezavisne numeričke varijable su testirane korištenjem *Mann-Whitney* testa, a razlike između dvije zavisne varijable su testirane korištenjem *Wilcoxon signed-rank* testa. Razlike između kategorijskih varijabli su testirane korištenjem χ^2 testa ili *Fisher's exact* testa. Korelacijska analiza je sprovedena korištenjem *Spearman-ovog* testa.

Analiza ROC (*“receiver operating characteristic”*) krive je korištena za procjenu mogućnosti korištenja navedenih hormona (PTH i CT) za razlikovanje pacijenata koji imaju PHPT u odnosu na zdrave ispitanike, kao i za razlikovanje pacijenata (iz PHPT grupe) sa paratiroidnim adenomom u odnosu na one sa paratiroidnom hiperplazijom. Prediktivna vrijednost markera je procijenjena kao površina ispod ROC krivulje (*“area under the curve”* [AUC]) sa intervalom pouzdanosti (*“confidence interval”* [CI]) 95%. Optimalna granična vrijednost određena je korištenjem *Youden's indeksa*, a osjetljivost i specifičnost povezane sa svakom graničnom vrijednosti su prikazane. Nivo statističke značajnosti postavljen je na $p < 0.05$.

4. REZULTATI

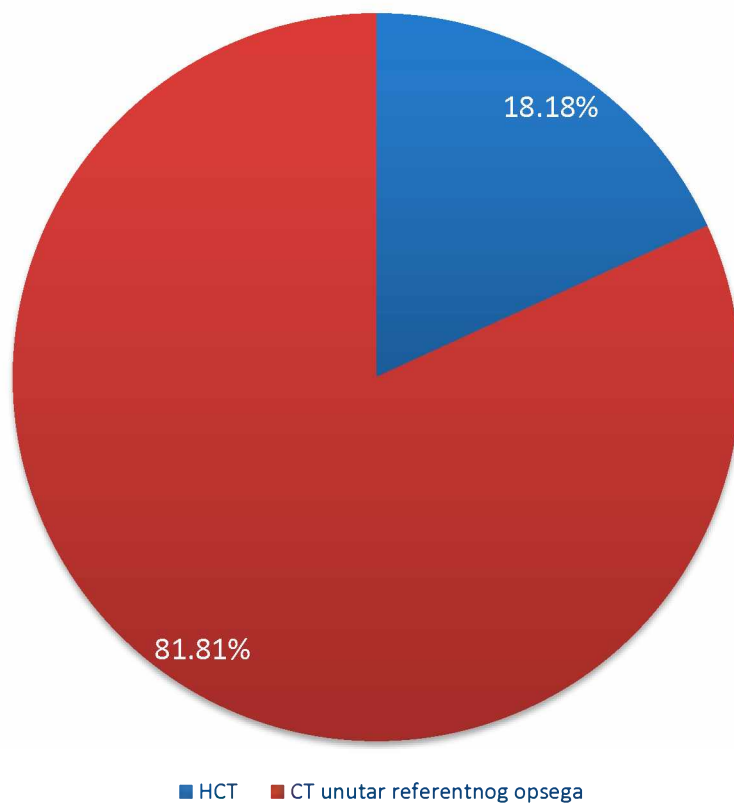
Biohemijske analize u bazalnim uslovima PHPT i HC grupe (Ca, Ca^{2+} , Ca(c), Phos, Ca u 24h urinu, Phos u 24h urinu, PTH i CT) su prikazane u tabeli 8. Kao što je i očekivano, pacijenti iz PHPT grupe su preoperativno imali značajno više nivoe Ca i Ca^{2+} u serumu, Ca u 24h urinu i Phos u 24h urinu ($p < 0.001$, za sve navedene varijable), kao i značajno niže nivoe Phos u serumu ($p < 0.001$), u poređenju sa ispitanicima iz HC grupe (tabela 8).

Tabela 8. Demografske karakteristike i biohemijske analize u bazalnim uslovima PHPT i HC grupe

	HC grupa (n=20)	PHPT grupa (n=44)	
	HC grupa (median [min, max])	PHPT grupa (median [min, max])	P
Ca (mmol/l)	2.45 (2.35-2.55)	2.86 (2.57-3.29)	<0.001
Ca(c) (mmol/l)	2.34 (2.11-2.52)	2.75 (2.43-3.25)	<0.001
Ca^{2+} (mmol/l)	1.17 (1.11-1.28)	1.40 (1.22-1.69)	<0.001
Phos (mmol/l)	1.13 (1.03-1.46)	0.79 (0.51-1.03)	<0.001
Ca u urinu (mmol/24h)	6.39 (3.00-10.22)	10.71 (2.13-28.50)	<0.001
Phos u urinu (mmol/24h)	5.38 (2.22-19.66)	16.70 (3.01-42.50)	<0.001
PTH (ng/l)	41.30 (20.70-60.10)	115.10 (34.00-394.80)	<0.001
CT (ng/l)	5.95 (3.10-9.20)	5.01 (2.10-27.44)	0.183
Histologija (Ad/Hip)		34/10 (77/23%)	-

Skrtaćenice: Ad, adenom; Ca, kalcijum; Ca(c), korigovani kalcijum; Ca^{2+} , jonizovani kalcijum; Phos, fosfat; CT, kalcitonin; HC, "healthy control"/zdrava kontrola; Hip, hiperplazija; PHPT, primarni hiperparatiroidizam; PTH, paratiroidni hormon. Mann-Whitney test and χ^2 test ili Fišerov tačan test su korišteni.

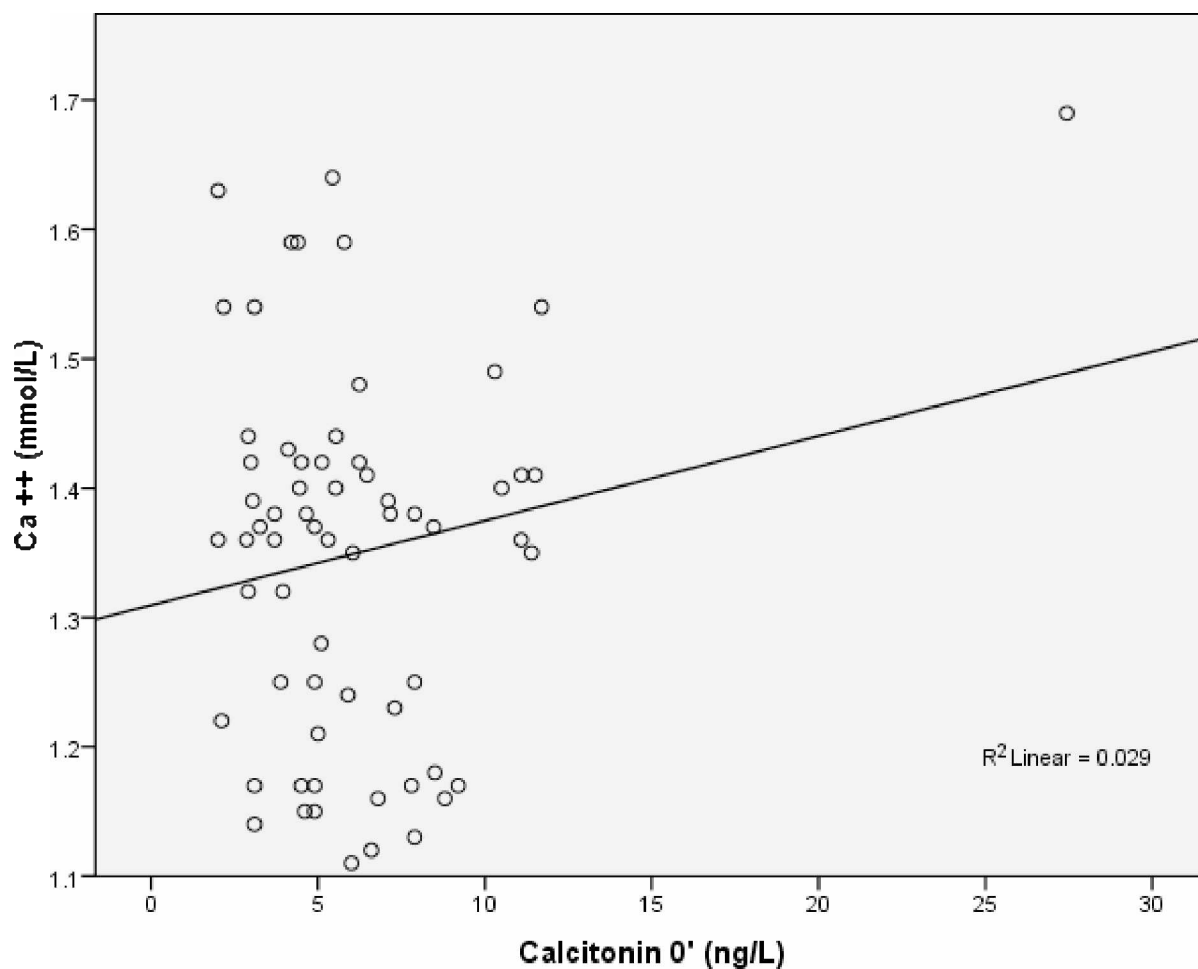
Bazalna HCT-a je bila prisutna kod osam od 44 ispitivana pacijenta u PHPT grupi (18.2% pacijenata) (grafikon 1), dok u kontrolnoj HC grupi nije bilo pacijenata sa bazalno povišenim nivoima CT.



Skraćenice: CT, "calcitonin"/kalcitonin; HCT, hiperkalcitonemija.

Grafikon 1. Procenat (%) pacijenata sa bazalnom hiperkalcitoninemijom (HCT) kod pacijenata u PHPT grupi

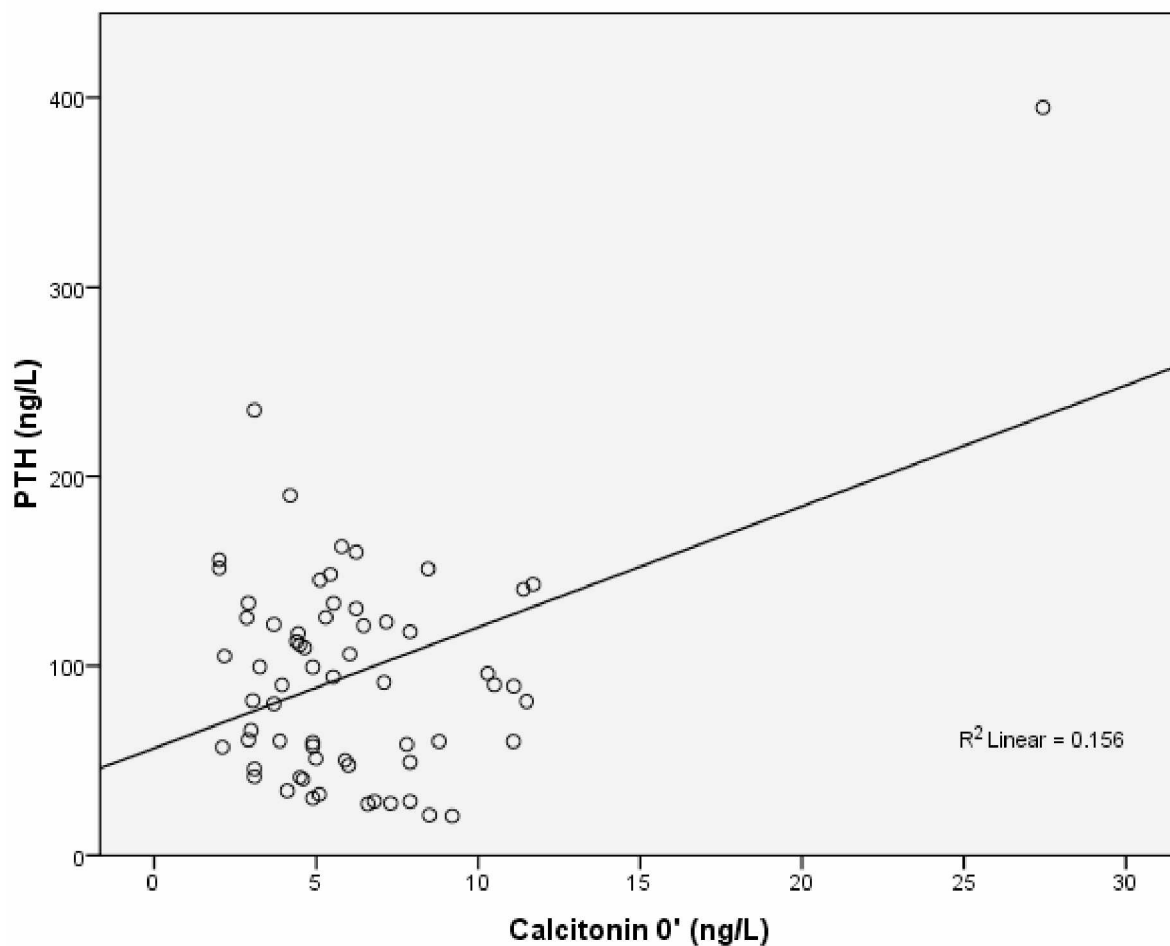
U PHPT grupi prije paratiroidektomije, ne postoje statistički značajne korelacije između nivoa Ca^{2+} i CT u bazalnim uslovima (slika 6), kao ni tokom vremena CIT-a ($p > 0.05$). Nakon paratiroidektomije takođe ne postoje korelacije između nivoa Ca^{2+} i CT u bazalnim uslovima, kao ni tokom vremena CIT-a ($p > 0.05$).



Slika 6. Korelacija između bazalnih nivoa Ca^{2+} i kalcitonina (CT) kod pacijenata u grupi PHPT.

U grupi HC postoji statistički značajna povezanost između vrijednosti Ca^{2+} i CT u petom ($r = -0.544$, $p = 0.013$), osmom ($r = -0.538$, $p = 0.014$) i desetom minutu ($r = -0.742$, $p = 0.0001$) CIT-a. U ostalim minutima CIT-a ne postoji statistički značajna povezanost između vrijednosti Ca^{2+} i CT ($p > 0.05$).

Takođe ne postoji statistički značajna povezanost između CT i PTH u bazalnim uslovima (slika 7), niti tokom vremena CIT-a ($p>0.05$). Ne postoji povezanost između vrijednosti Ca^{2+} i PTH u grupi HC ($p>0.05$).

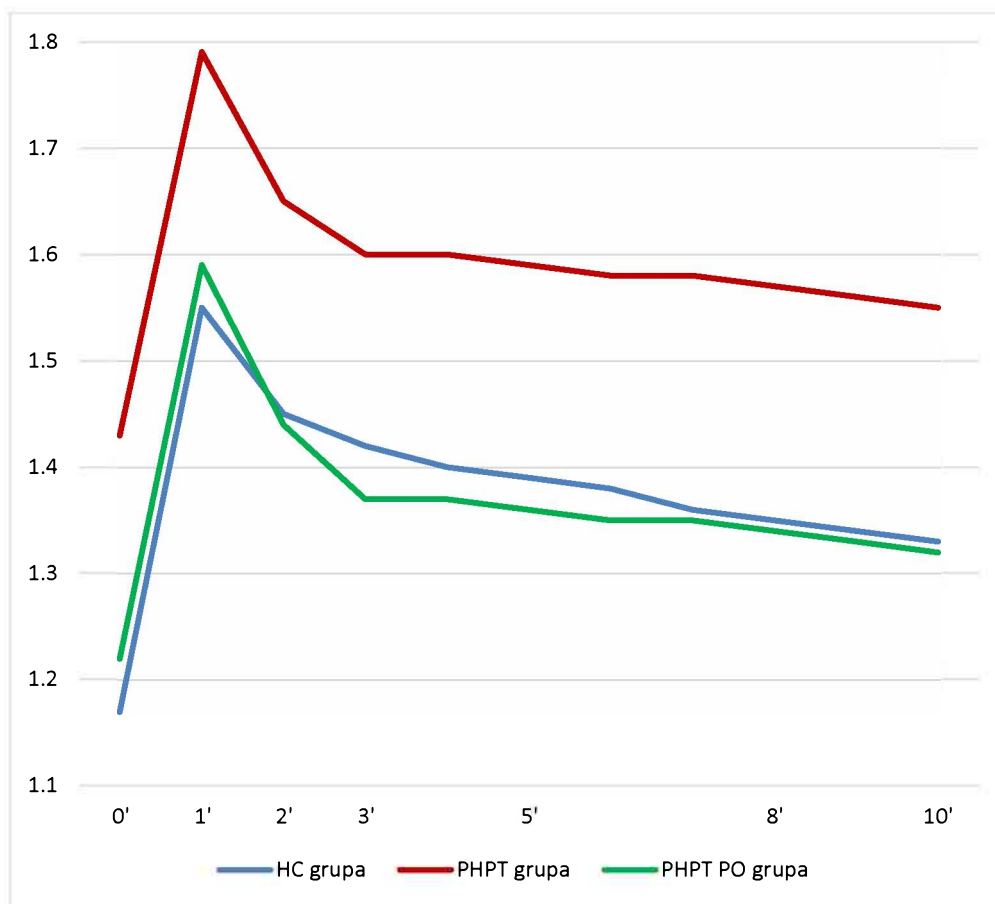


Slika 7. Korelacija između bazalnih nivoa PTH i CT kod pacijenata u grupi PHPT.

Nivo Ca^{2+} tokom CIT-a u HC, PHPT i PHPT PO grupi je prikazan na grafikonu 2.

Maksimalne vrijednosti Ca^{2+} tokom CIT-a su izmjerene u 1' u svim ispitivanim grupama, u PHPT grupi su iznosile 1.79 ± 0.23 mmol/, u HC grupi 1.55 ± 0.22 i u PHPT PO grupi 1.59 ± 0.13 mmol/l (grafikon 2).

Nivo Ca^{2+} je postepeno opadao dostižući najniže vrijednosti u 10' CIT-a u PHPT, HC i PHPT PO grupi, do nivoa 1.55 ± 0.10 , 1.33 ± 0.02 i 1.32 ± 0.04 mmol/l, redom (grafikon 2).



Skraćenice: HC, "healthy control"/zdrava kontrola; PHPT, primarni hiperparatiroidizam; PHPT PO, primarni hiperparatiroidizam poslije operacije.

Grafikon 2. Nivo Ca^{2+} (mmol/l) tokom minuta CIT-a u HC, PHPT i PHPT PO grupi

Tokom CIT-a, u HC grupi postoji značajna negativna korelacija između Ca^{2+} i CT u 5', 8' i 10' ($r = -0.544$, $p = 0.013$; $r = -0.538$, $p = 0.014$; and $r = -0.742$, $p < 0.001$, redom).

U PHPT grupi, tokom CIT-a, u svim minutima testa, ne postoji značajna korelacija između CT i Ca^{2+} , i prije i nakon paratiroidektomije ($p > 0.05$).

Odgovori PTH tokom CIT-a u grupama HC, PHPT i PHPT PO su ilustrovani u tabeli 9 i grafikonu 3.

Tabela 9. Nivoi PTH tokom CIT-a u HC, PHPT i PHPT PO grupama

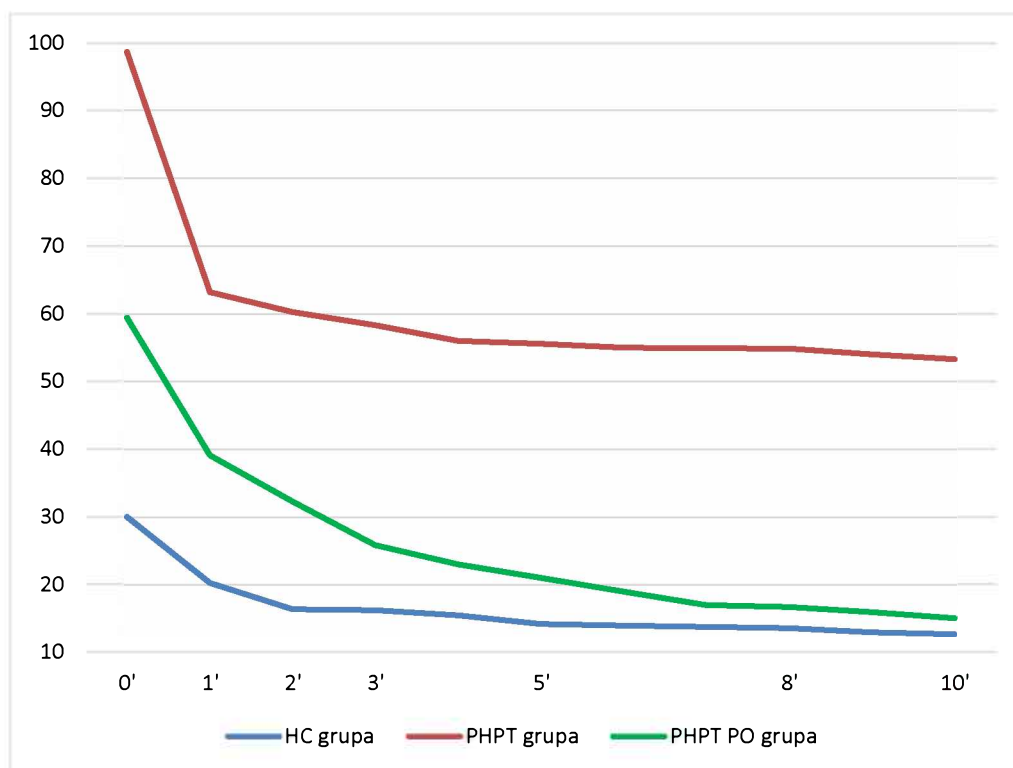
CIT	HC grupa (median [min-max])	PHPT grupa (median [min-max])	PHPT PO grupa (median [min-max])	p*	p**	p***
PTH (ng/l)						
PTH 0'	30.00 (18.50-48.10)	98.60 (35.40-397.70)	59.47 (25.37-84.87)	<0.001	<0.001	<0.001
PTH 1'	20.30 (13.00-89.60)	63.15 (15.00-237.00)	39.11 (16.97-59.40)	<0.001	<0.001	<0.001
PTH 2'	16.40 (12.00-28.00)	60.24 (14.60-224.40)	32.29 (14.14-52.80)	<0.001	<0.001	<0.001
PTH 3'	16.25 (9.50-22.60)	58.28 (16.10-200.00)	25.87 (13.20-44.32)	<0.001	<0.001	<0.001
PTH 5'	14.25 (9.00-20.70)	55.55 (11.80-186.30)	21.05 (8.48-33.81)	<0.001	<0.001	<0.001
PTH 8'	13.60 (10.60-35.40)	54.86 (11.20-180.50)	16.74 (7.54-29.48)	<0.001	<0.001	0.013
PTH 10'	12.70 (5.00-37.20)	53.31 (12.00-230.80)	15.09 (7.54-26.11)	<0.001	<0.001	0.187
Minimalne vrijednosti PTH tokom CIT-a						
PTHmin	10.95 (5.0-19.30)	52.98 (11.20-180.50)	15.10 (7.54-26.11)	<0.001	<0.001	0.001

PHPT vs. HC grupa*, PHPT vs. PHPT PO grupa**, PHPT-PO vs. HC grupa***

Skraćenice: CIT, kalcijum infuzioni test; HC, "healthy control"/zdrava kontrola; PHPT, primarni hiperparatiroidizam; PTH, paratiroidni hormon; PHPT PO, primarni hiperparatiroidizam poslije operacije; PTHmin, PTH minimum. Mann-Whitney test je korišten za grupe.

Nivo serumskog PTH je kod pacijenata iz PHPT grupe bio najviši na početku testa (PTH 0': 98.60 [35.40-397.70] ng/l) i nakon ordiniranja brze Ca infuzije nivo PTH se suprimovao do najnižih nivoa u 10. minutu (PTH 1': 63.15 [15.00-237.00], PTH 2': 60.24 [14.60-224.40], PTH 3': 58.28 [16.10-200.0], PTH 5': 55.55 [11.80-186.30], PTH 8': 54.86 [11.20-180.50], PTH 10': 53.31 [12.00-230.80] ng/l, redom) (tabela 9, grafikon 3).

Takođe očekivano, u kontrolnoj HC grupi nivo PTH na početku testa je bio najviši (PTH 0': 30.00 [18.50-48.10] ng/l). Nakon brze infuzije Ca, nivo PTH se suprimuje do najnižih nivoa u 10 minutu (PTH 1': 20.30 [13.00-89.60], PTH 2': 16.40 [12.00-28.00], PTH 3': 16.25 [9.50-22.60], PTH 5': 14.25 [9.00-20.70], PTH 8': 13.60 [10.60-35.40], PTH 10': 12.70 [5.00-37.20] ng/l, redom) (tabela 9, grafikon 3).

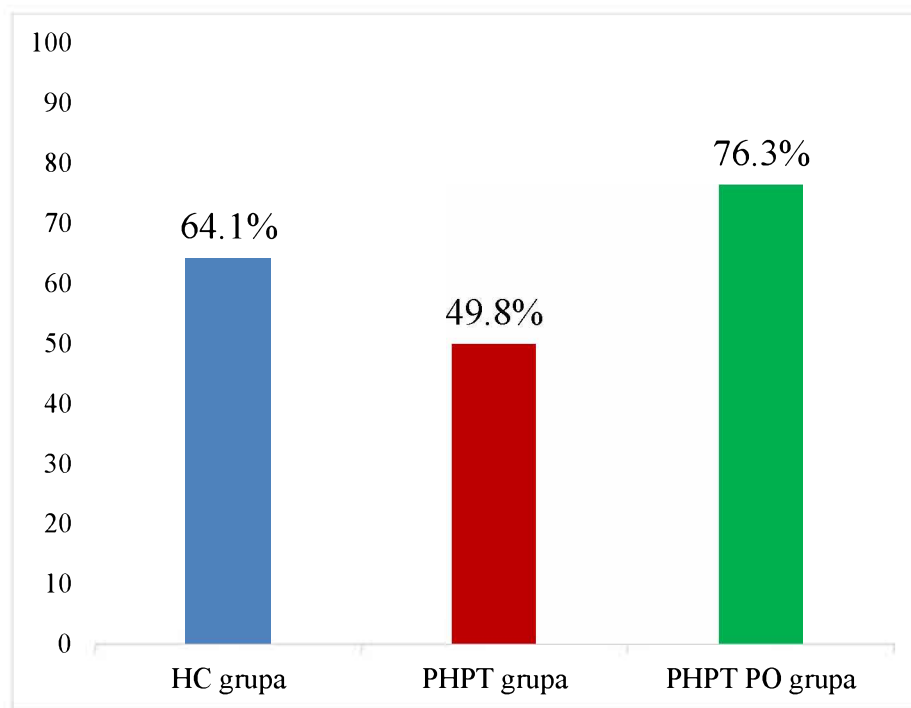


Skraćenice: HC, "healthy control"/zdrava kontrola; PHPT, primarni hiperparatiroidizam; PHPT PO, primarni hiperparatiroidizam poslije operacije.

Grafikon 3. Nivo PTH (ng/l) tokom minuta CIT-a u HC, PHPT i PHPT PO grupi

Nakon paratiroidektomije (PHPT PO grupa), nivo PTH na početku testa je bio takođe najviši (PTH 0': 59.47 [25.37-84.87] ng/l), sa postepenim padom nivoa PTH do 10 minuta (PTH 1': 39.11 [16.97-59.40], PTH 2': 32.29 [14.14-52.80], PTH 3': 25.87 [13.20-44.32], PTH 5': 21.05 [8.48-33.81], PTH 8' 16.74 [7.54-29.48], PTH 10': 15.09 [7.54-26.11], redom) (tabela 9, grafikon 3).

Poređenjem odgovora tokom CIT-a, kod pacijenata u PHPT grupi, supresija PTH je bila niža u odnosu na ispitanike u HC grupi (49.8 [27-78] vs. 64.1 [39-83] %, $p=0.006$) (grafikon 4), ali nakon paratiroidektomije (PHPT-PO grupa) supresija PTH se promijenila i bila je značajno statistički veća u odnosu na supresiju prije operacije (PHPT grupa) (76.3 [53-85] vs. 49.8 [27-78] %, $p<0.001$), i u odnosu na zdrave ispitanike (HC grupa) (76.3 (53-85) vs. 64.1 (39-83) %, $p<0.001$) (grafikon 4).

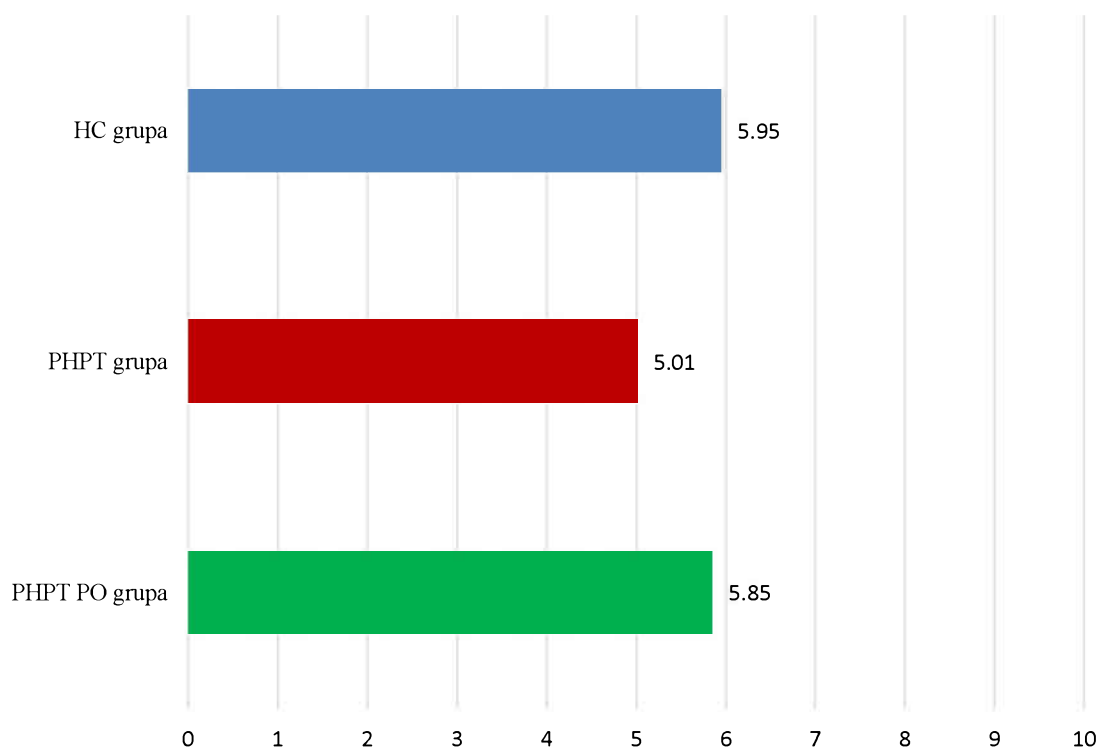


Skraćenice: HC, zdrava kontrola; PHPT, primarni hiperparatiroidizam; primarni hiperparatiroidizam poslije operacije, PHPT PO.

Grafikon 4. Supresija PTH (%) tokom CIT-a u HC, PHPT i PHPT PO grupi

Ako se u obzir uzme pol, supresija nivoa PTH prije paratiroidektomije je bila izraženija kod žena u odnosu na muškarce (54 [27-78] vs. 46 [34-53] %, $p=0.029$).

Između pacijenata iz PHPT grupe i ispitanika iz HC grupe, nije postojala statistički značajna razlika kada je u pitanju nivo bazalnog CT (PHPT vs. HC grupa: median 5.01 [2.10-27.44] vs. 5.95 [3.10-9.20] ng/l, $p=0.183$) (grafikon 5, tabela 10).



Skraćenice: HC, zdrava kontrola; PHPT, primarni hiperparatiroidizam; PHPT PO, primarni hiperparatiroidizam poslije operacije.

Grafikon 5. Nivo bazalnog CT (ng/l) kod pacijenata u HC, PHPT i PHPT PO grupi

Nakon paratiroidektomije, vrijednosti bazalnih nivoa CT-a se vraćaju na vrijednosti približne onima kod ispitanika iz HC grupe (PHPT PO vs. HC grupa: 5.85 [2.50-19.0] vs. 5.95 [3.10-9.20], $p=0.429$) (tabela 10, grafikon 5).

U svim ispitivanim grupama, u HC, PHPT i PHPT-PO grupi, tokom CIT-a su dostignute najviše vrijednosti CT u prvom minutu testa (tabela 10, grafikon 6).

Tabela 10. Nivoi CT tokom CIT-a u HC, PHPT i PHPT PO grupama

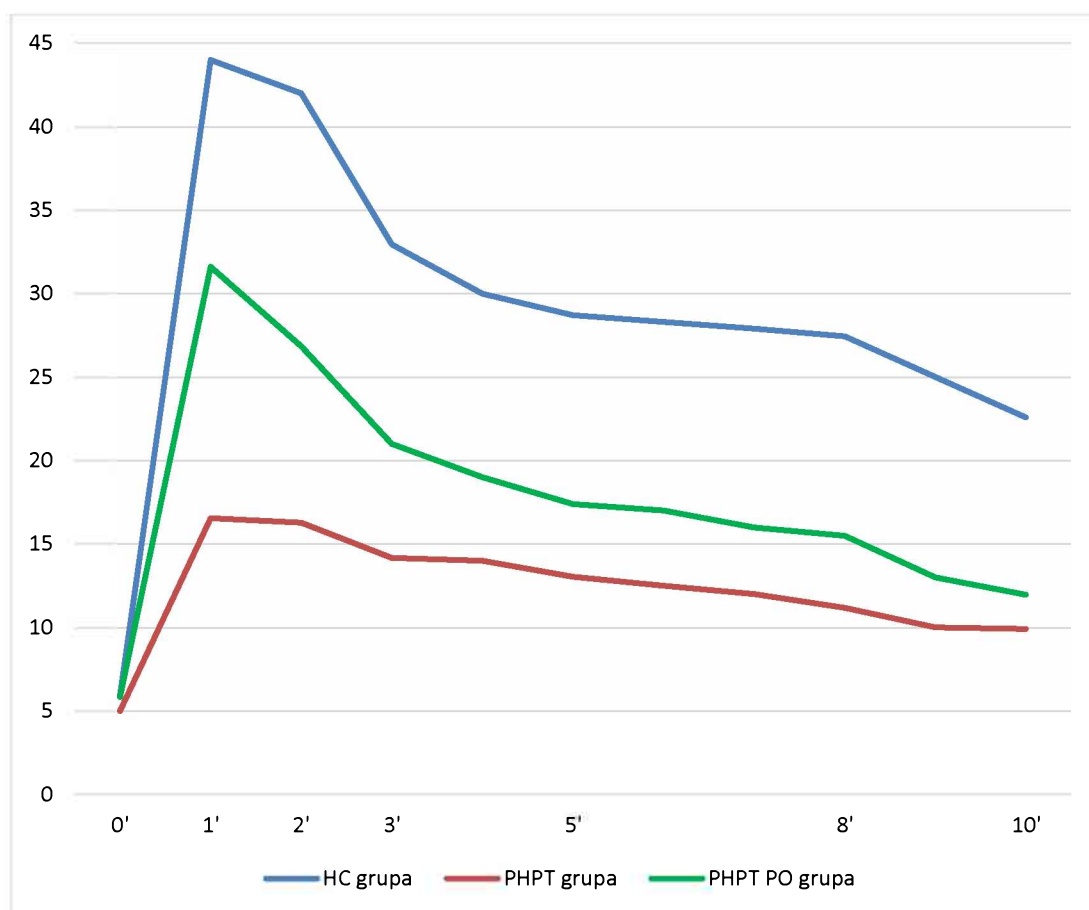
CIT	HC grupa (median [min-max])	PHPT grupa (median [min-max])	PHPT PO grupa (median [min-max])	p*	p**	p***
CT (ng/l)						
CT 0'	5.95 (3.10-9.20)	5.01 (2.01-27.44)	5.85 (2.50-19.0)	0.183	0.167	0.429
CT 1'	44.00 (13.90-70.50)	16.55 (3.50-30.16)	31.60 (12.50-46.50)	<0.001	<0.001	0.160
CT 2'	42.00 (15.10-75.30)	16.28 (3.80-27.11)	26.85 (7.80-47.90)	<0.001	<0.001	0.009
CT 3'	32.95 (11.20-69.10)	14.17 (4.20-25.22)	21.00 (5.60-40.90)	<0.001	<0.001	0.003
CT 5'	28.70 (5.90-49.5)	13.03 (3.90-22.98)	17.40 (6.60-35.70)	<0.001	<0.001	0.005
CT 8'	27.45 (7.70-47.70)	11.17 (3.97-19.23)	15.50 (5.60-33.80)	<0.001	0.002	0.001
CT 10'	22.60 (6.80-41.3)	9.91 (3.90-18.29)	11.95 (4.60-31.13)	<0.001	<0.001	<0.001
Maksimalne vrijednosti CT tokom CIT-a						
CTmax	50.65 (15.10-75.30)	17.28 (4.40-30.16)	31.60 (12.50-47.9)	<0.001	<0.001	0.006

PHPT vs. HC grupa*, PHPT vs. PHPT PO grupa**, PHPT-PO vs. HC grupa***

Skraćenice: CIT, kalcijum infuzioni test; CT, kalcitonin; CTmax, CT maksimum; HC, zdrava kontrola; PHPT, primarni hiperparatiroidizam, PHPT PO, primarni hiperparatiroidizam poslije operacije. Mann-Whitney test je korišten za grupe.

U grupi pacijenata sa PHPT, nakon prvog minuta (CT 1': 16.55 [3.50-30.16] ng/l), vrijednosti CT postepeno opadaju do najnižih u 10 minutu (CT 2': 16.28 [3.80-27.11], CT 3': 14.17 [4.20-25.22], CT 5': 13.03 [3.90-22.98], CT 8': 11.17 [3.97-19.23], CT 10': 9.91 [3.90-18.29] ng/l, redom) ali se ne spuštaju do nivoa prije testa u 0' (CT 0': 5.01 [2.01-27.44] ng/l) (tabela 10, grafikon 6). U HC grupi, nakon prvog minuta (CT 1': 44.00 [13.90-70.50], vrijednosti

CT takođe opadaju tokom CIT-a, do najnižih vrijednosti u desetom minutu (CT 2': 42.00 [15.10-75.30], CT 3': 32.95 [11.20-69.10], CT 5': 28.70 [5.90-49.5], CT 8': 27.45 [7.70-47.70], CT 10': 22.60 [6.80-41.3] ng/l, redom) (tabela 10, grafikon 6).



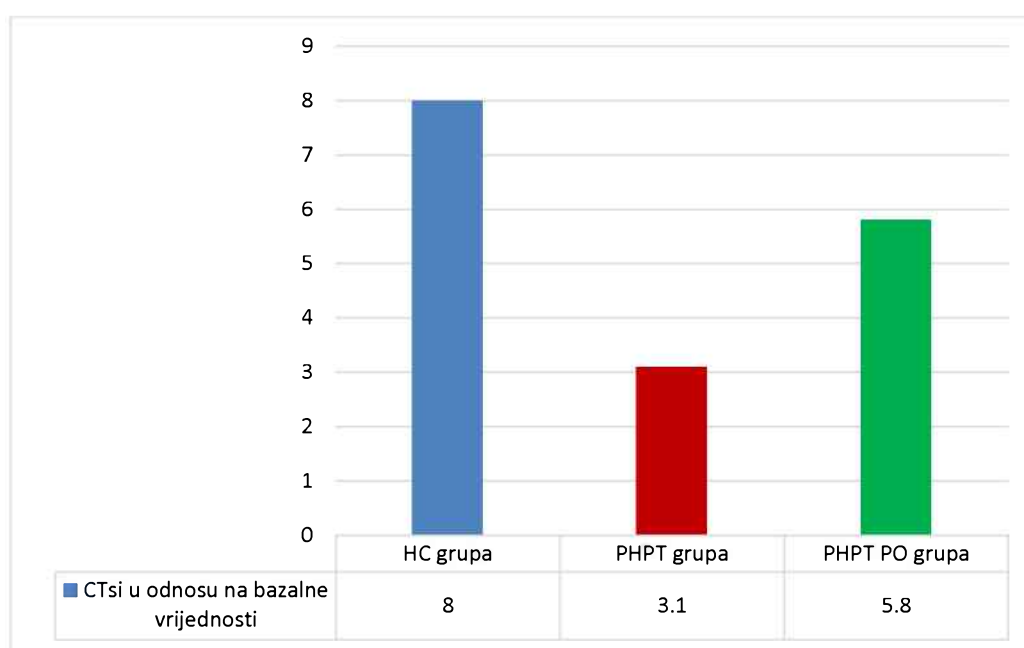
Skrćenice: HC, zdrava kontrola; PHPT, primarni hiperparatiroidizam; PHPT PO, primarni hiperparatiroidizam poslije operacije.

Grafikon 6. Nivo CT (ng/l) tokom minuta CIT-a u HC, PHPT i PHPT PO grupi

Nakon paratiroidektomije (PHPT PO grupa), najviše vrijednosti CT tokom CIT-a, su takođe dostignute u prvom minutu testa (CT 1': 31.60 [12.50-46.50] ng/l), sa postepenim opadanjem do desetog minuta, kada su dostignute najniže vrijednosti (CT 2': 26.85 [7.80-47.90], CT 3':

21.00 [5.60-40.90], CT 5': 17.40 [6.60-35.70], CT 8': 15.50 [5.60-33.80], CT 10' 11.95 [4.60-31.13] ng/l, redom) (tabela 10, grafikon 6).

Shodno navedenim rezultatima, u poređenju sa ispitanicima iz HC grupe, pacijenti sa PHPT su imali oslabljen sekretorni odgovor tokom CIT-a. Nakon brze infuzije Ca, u HC grupi nivo CT u serumu je porastao (CTsi) 8 puta u odnosu na bazalne vrijednosti, dok je u PHPT grupi nivo CT porastao 3.1 puta u odnosu na bazalne vrijednosti (PHPT vs. HC group: CTsi 3.1 [1-6.0] vs. 8.0 [2.3-17.2], redom; $p < 0.001$) (grafikon 7).



Skraćenice: HC, zdrava kontrola; PHPT, primarni hiperparatiroidizam; PHPT PO, primarni hiperparatiroidizam poslije operacije.

Grafikon 7. Stimulisani porast CT (CTsi) u odnosu na bazalne vrijednosti tokom CIT-a u HC, PHPT i PHPT PO grupi

Sekretorni odgovor CT se značajno popravio nakon paratiroidektomije (PHPT PO grupa). U grupi PHPT PO, stimulacijom tokom CIT-a, CT je porastao 5.8 puta u odnosu na bazalne

vrijednosti, što predstavlja značajno adekvatniji sekretorni CT odgovor u odnosu na odgovor kod istih PHPT pacijenata prije paratiroidektomije (CTsi 5.8 [1.5-14.6] vs. 3.1 [1-6.0], $p < 0.001$); ipak, odgovor CT u PHPT PO grupi mjesec dana nakon paratiroidektomije se nije oporavio do nivoa kao kod ispitanika iz HC grupe (CTsi 5.8 [1.46-14.63] vs. 8.0 [2.3-17.2], $p = 0.043$) (grafikon 7).

Bazalni nivoi PTH i CT kod pacijenata sa adenomom i hiperplazijom PTŽ su prikazani u tabeli 11.

Tabela 11. Bazalni nivoi PTH i CT kod pacijenata sa adenomom i hiperplazijom PTŽ

	Pacijenti sa PHPT		
	Adenom (n=34) (median [min-max])	Hiperplazija (n=10) (median [min-max])	p
Starost (godine)	55.5 (32-79)	60.5 (25-76)	0.537
Pol (M/Ž)	11/23 (32/68%)	0/10 (0/100%)	0.046
Ca (mmol/l)	2.88 (2.57-3.29)	2.78 (2.62-3.05)	0.178
Ca(c) (mmol/l)	2.76 (2.43-3.25)	2.72 (2.54-3.03)	0.207
Ca ²⁺ (mmol/l)	1.41 (1.22-1.69)	1.38 (1.25-1.59)	0.107
Phos (mmol/l)	0.79 (0.51-1.03)	0.85 (0.56-0.99)	0.663
Ca u 24h urinu (mmol/24h)	10.70 (2.13-28.5)	10.84 (7.52-16.12)	0.425
Phos u 24h urinu (mmol/24h)	16.90 (3.01-42.5)	15.45 (6.12-36.43)	0.644
PTH (ng/l)	112.04 (34.00-394.80)	119.61 (60.40-162.90)	0.955
CT (ng/l)	4.47 (2.01-27.44)	6.78 (3.70-11.40)	0.08

Skraćenice: Ca, kalcijum; Ca (c), korigovani kalcijum; Ca²⁺, jonizovani kalcijum; CIT, kalcijum infuzioni test; Phos, fosfat; CT, kalcitonin; M, muškarci; PHPT, primarni hiperparatiroidizam; PTH, paratiroidni hormon; Ž, žene.

Nakon paratiroidektomije, u grupi PHPT, kod 34 pacijenta je patohistološki verifikovan adenom PTŽ (77.27%), dok je kod 10 pacijenata patohistološki potvrđena hiperplazija PTŽ (22.72%) (tabela 11). Pacijenti sa adenomom PTŽ su bili mlađe životne dobi u odnosu na pacijente sa hiperplazijom, ali bez statističke značajnosti (55.5 [32-79] vs. 60.5 [25-76] godina, $p=0.537$) (tabela 11). Kod PHPT pacijenata sa adenomom, postojala je predominacija ženskog pola u odnosu na muškarce (68 vs. 32 %), dok su svi pacijenti sa hiperplazijom bile ženskog pola u našem istraživanju (100%) ($p=0.046$) (tabela 11).

Nije postojala statistički značajna razlika između bazalnih nivoa Ca, Ca(c), Ca^{2+} , Phos i PTH, kod pacijenata sa adenomom i pacijenata sa hiperplazijom (Ca, 2.88 [2.57-3.29] vs. 2.78 [2.62-3.05] mmol/l, $p=0.178$; Ca(c), 2.76 [2.43-3.25] vs. 2.72 [2.54-3.03] mmol/l, $p=0.207$; Ca^{2+} , 1.41 [1.22-1.69] vs. 1.38 [1.25-1.59] mmol/l, $p=0.107$; Phos, 0.79 [0.51-1.03] vs. 0.85 [0.56-0.99] mmol/l, $p=0.663$; PTH, 112.04 [34.00-394.80] vs. 119.61 [60.40-162.90] ng/l, $p=0.955$) (tabela 11).

Nivoi PTH u bazalnim uslovima i tokom svih ispitivanih tačaka CIT-a kod pacijenata sa adenomom i hiperplazijom PTŽ su ilustrovani u tabeli 12 i grafikonu 8.

Upoređujući bazalne nivoe PTH i nivoe PTH tokom svih tačaka CIT-a (0', 1', 2', 3', 5', 8' i 10') prije paratiroidektomije, nijesu uočene statistički značajne razlike između pacijenata sa adenomom i hiperplazijom ($p>0.05$) (tabela 12, grafikon 8).

Nakon paratiroidektomije, tokom CIT-a, PTH nivoi su bili statistički značajno viši u drugom i petom minutu kod pacijenata sa adenomom u odnosu na PTH nivoe kod pacijenata sa hiperplazijom ($p=0.029$, $p=0.009$, redom), sa postepenim izjednačavanjem serumskih nivoa PTH u osmom i desetom minutu ($p=0.287$ and $p=0.922$, redom) (tabela 12, grafikon 8).

Prije paratiroidektomije, urađeni CIT je pokazao najniže vrijednosti PTH (PTH nadir) u trećem minutu kod pacijenata sa adenomom (52.28 [16.10-200.00] ng/l i osmom minutu kod pacijenata sa hiperplazijom (49.96 [36.90-113.20] ng/l) (tabela 12, grafikon 8).

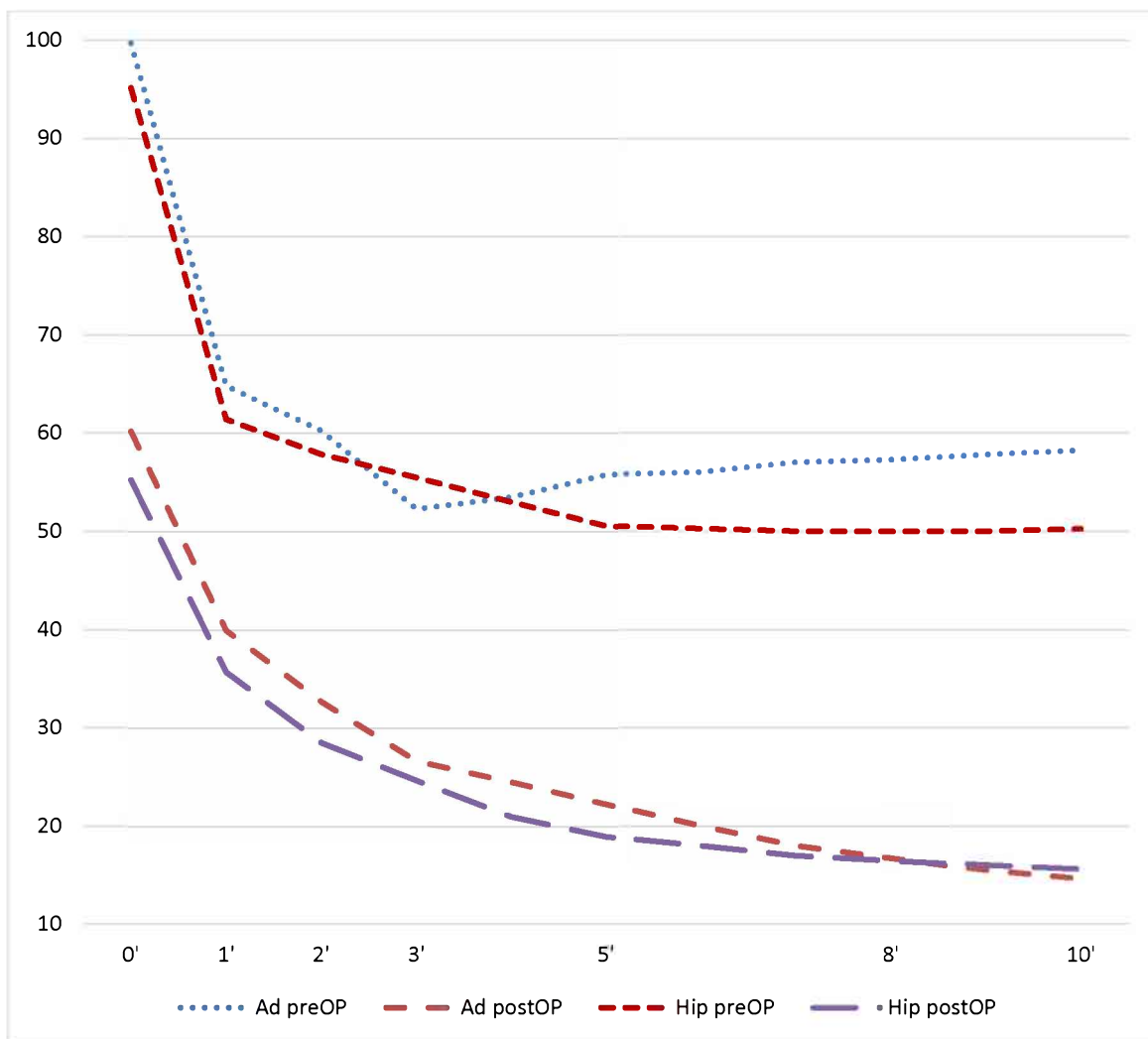
Tokom CIT-a nakon paratiroidektomije, PTH nadir je nastupio kasnije, u desetom minutu, i kod pacijenata sa adenomom (14.60 [7.54-26.11] ng/l) i kod pacijenata sa hiperplazijom (15.57 [8.48-20.82] ng/l) (tabela 12, grafikon 8).

Tabela 12. Nivoi PTH tokom CIT-a kod PHPT pacijenata sa adenomom i hiperplazijom

CIT	Adenom (n=34) (median [min-max])		Hiperplazija (n=10) (median [min-max])		p	
	Prije OP	Poslije OP	Prije OP	Poslije OP	p*	p**
PTH 0'	99.66 (35.40-397.70)	60.17 (25.37-82.04)	95.10 (74.40-151.70)	55.23 (45.26-84.87)	0.823	0.966
PTH 1'	64.82 (15.0-237.0)	39.93 (16.97-59.40)	61.40 (37.22-176.10)	35.69 (23.57-49.97)	0.867	0.127
PTH 2'	60.24 (14.60-224.40)	32.69 (14.14-52.80)	57.86 (35.30-157.40)	28.53 (19.80-35.83)	0.823	0.029
PTH 3'	52.28 (16.10-200.00)	26.63 (13.20-44.32)	55.51 (37.10-168.0)	24.68 (19.11-28.55)	1	0.096
PTH 5'	55.79 (11.80-186.30)	22.25 (8.48-33.81)	50.55 (36.10-130.60)	18.94 (14.51-23.73)	1	0.009
PTH 8'	57.27 (11.20-180.50)	16.74 (7.54-29.48)	49.96 (36.90-113.20)	16.50 (10.92-21.96)	0.993	0.287
PTH 10'	58.23 (12.00-230.80)	14.60 (7.54-26.11)	50.21 (36.0-110.10)	15.57 (8.48-20.82)	0.823	0.922
Minimalne vrijednosti PTH tokom CIT-a						
PTHmin	55.79 (11.20-180.50)	14.60 (7.54-26.11)	49.30 (35.30-110.10)	15.57 (8.48-20.82)	0.845	0.812

Adenom vs. hiperplazija prije paratiroidektomije*; adenom vs. hiperplazija poslije paratiroidektomije**

Skrćenice: CIT, kalcijum infuzioni test; OP, operacija; PTH, paratiroidni hormon; PTHmin, PTH minimum. Korišten Mann-Whitney test.



Skraćenice: Ad, adenom; CIT, kalcijum infuzioni test; hip, hiperplazija; PHPT, primarni hiperparatiroidizam; preOP, prije operacije; postOP, poslije operacije; PTH, paratiroidni hormon, PTŽ, paratiroidne žlijezde.

Grafikon 8. Odgovor PTH (ng/l) tokom CIT-a prije i nakon paratiroidektomije kod PHPT pacijenata sa adenomom i hiperplazijom PTŽ

Prije operacije kod pacijenata sa PHPT, nije postojala razlika u PTH supresiji između pacijenata sa adenomom i hiperplazijom (PTHsup(%), 52.9 [33-78] vs. 49.2 [27-62] %, $p=0.287$). Takođe, nakon paratiroidektomije, PTH supresija je bila slična kod pacijenata sa adenomom i hiperplazijom (PTHsup(%), 75.9 [53-85] vs. 78.1 [62-82] %, $p=0.313$).

Nivo bazalnog CT kod pacijenata sa adenomom je statistički značajno niži u odnosu na nivo bazalnog CT kod pacijenata sa hiperplazijom, i prije i poslije paratiroidektomije (4.48 [2.01-27.44] vs. 6.79 [3.70-11.40] i 5.40 [2.50-19.0] vs. 7.95 [4.20-12.10], $p=0.008$ i $p=0.018$, redom) (tabela 13, grafikon 9).

Prije paratiroidektomije, tokom svih tačaka CIT-a (0', 1', 2', 3', 5', 8' i 10'), nijesu uočene razlike između nivoa CT-a, između pacijenata sa adenomom i hiperplazijom ($p>0.05$) (tabela 13, grafikon 9).

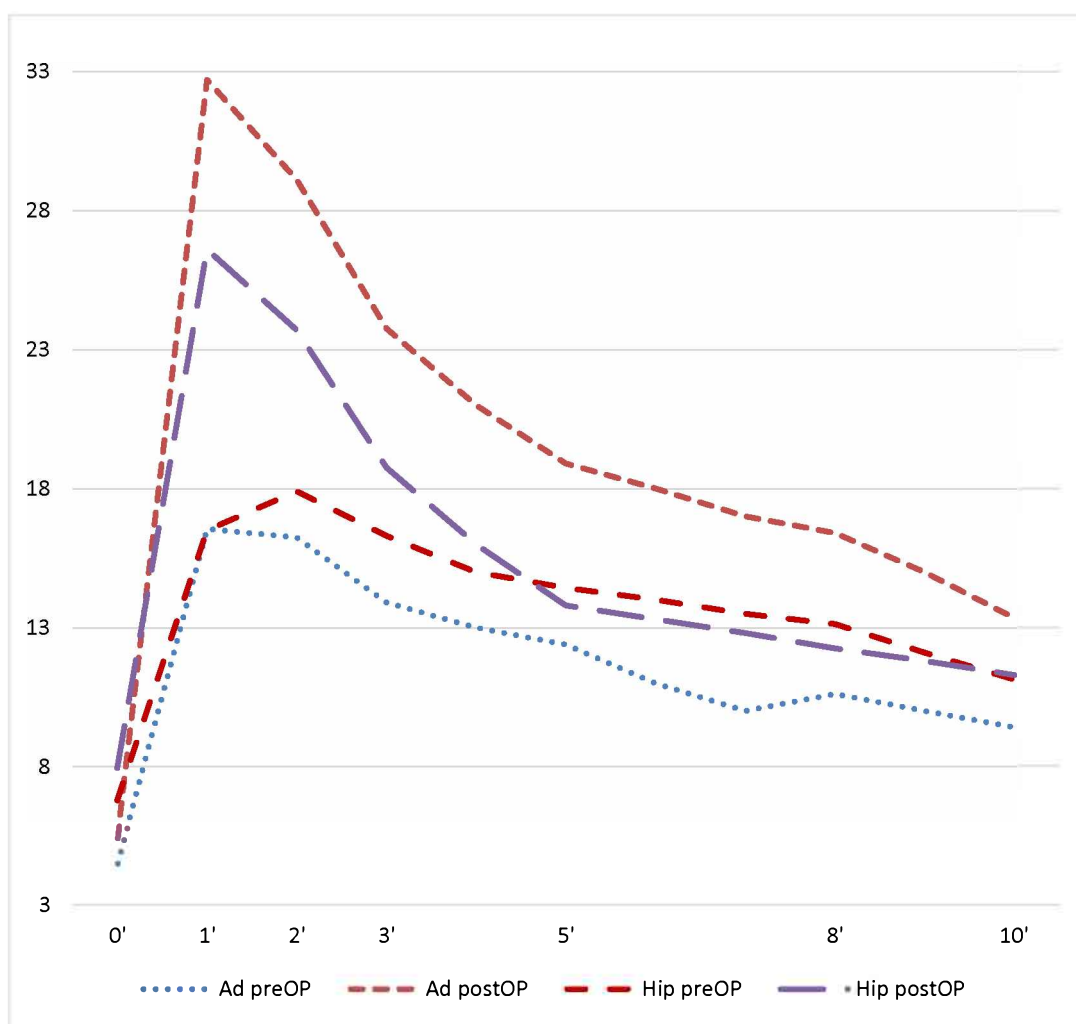
Tabela 13. Nivoi CT tokom CIT-a kod PHPT pacijenata sa adenomom i hiperplazijom

CIT	Adenom (n=34) (median [min-max])		Hiperplazija (n=10) (median [min-max])		p	
	Prije OP	Poslije OP	Prije OP	Poslije OP	p*	p**
CT (ng/l)						
CT 0'	4.48 (2.01-27.44)	5.40 (2.50-19.0)	6.79 (3.70-11.40)	7.95 (4.20-12.10)	0.008	0.018
CT 1'	16.55 (3.50-30.16)	32.70 (12.50-46.50)	16.50 (4.40-27.50)	26.60 (21.70-37.40)	0.9	0.052
CT 2'	16.24 (3.80-27.11)	29.10 (7.80-47.90)	17.90 (4.20-25.10)	23.70 (18.50-31.20)	0.978	0.042
CT 3'	13.90 (4.20-25.20)	23.75 (5.60-40.9)	16.30 (4.30-23.87)	18.75 (13.40-28.40)	0.538	0.088
CT 5'	12.39 (4.28-22.98)	18.90 (6.60-35.70)	14.43 (3.90-21.68)	13.80 (8.50-24.12)	0.450	0.104
CT 8'	10.62 (3.99-19.23)	16.40 (5.60-33.8)	13.13 (3.97-15.87)	12.25 (8.50-19.11)	0.327	0.378
CT 10'	9.42 (3.90-18.29)	13.35 (4.60-31.13)	11.14 (4.11-15.44)	11.30 (4.60-19.20)	0.341	0.370
CTmax	16.83 (4.50-30.16)	32.70 (12.50-47.90)	18.07 (4.40-27.50)	26.60 (21.70-37.40)	0.955	0.038

Adenom vs. hiperplazija prije paratiroidektomije*; adenom vs. hiperplazija poslije paratiroidektomije**

Skrćenice: CIT, kalcijum infuzioni test; CT, kalcitonin; CTmax, CT maksimum; PHPT, primarni hiperparatiroidizam. Korišten Mann-Whitney test.

Nakon paratiroidektomije, tokom CIT-a, vrijednosti CT kod pacijenata sa adenomom su bile više u odnosu na vrijednosti kod pacijenata sa hiperplazijom, sa graničnom statističkom značajnošću u prvom, drugom i trećem minutu testa ($p=0.052$, $p=0.042$, and $p=0.088$, redom) (tabela 13, grafikon 9).



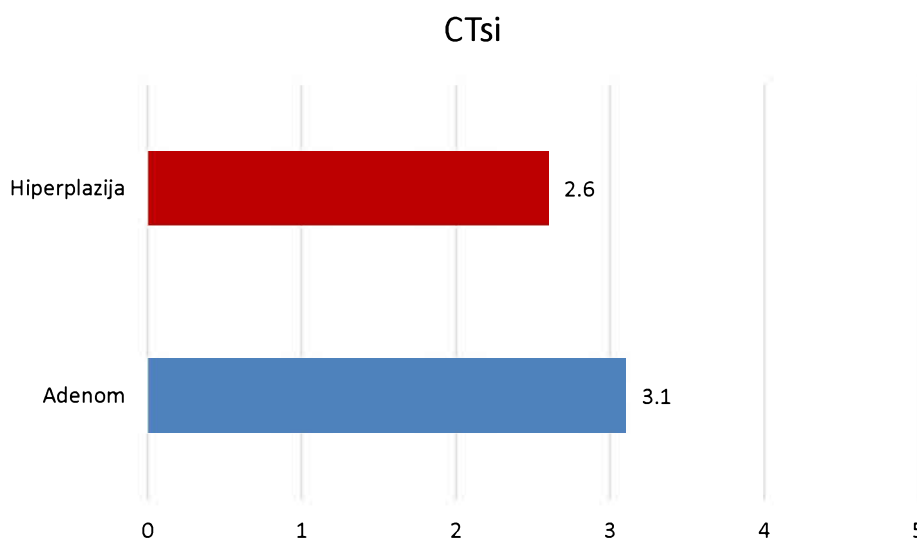
Skraćenice: Ad, adenom; CIT, kalcijum infuzioni test; hip, hiperplazija; CT, kalcitonin; PHPT, primarni hiperparatiroidizam; preOP, prije operacije; postOP, poslije operacije; PTŽ, paratiroidne žlijezde.

Grafikon 9. Odgovor CT (ng/l) tokom CIT-a prije i nakon paratiroidektomije kod PHPT pacijenata sa adenomom i hiperplazijom PTŽ

Kod pacijenata sa paratiroidnim adenomom, nivoi CT-a su bili značajno viši u svim tačkama CIT-a (0', 1', 2', 3', 5', 8' i 10') nakon paratiroidnektomije, u poređenju sa nivoima CT-a prije paratiroidnektomije ($p < 0.01$, za sve minute testa).

Kod pacijenata sa paratiroidnom hiperplazijom, nivoi CT-a nakon paratiroidnektomije su bili viši u odnosu na nivoe CT-a prije paratiroidnektomije samo u prvom, drugom i trećem minutu CIT-a ($p = 0.001$, $p = 0.004$, i $p = 0.041$, redom), ali u petom, osmom i desetom minutu CIT-a, nivoi CT-a su se približili ($p = 0.88$, $p = 0.94$, i $p = 0.94$).

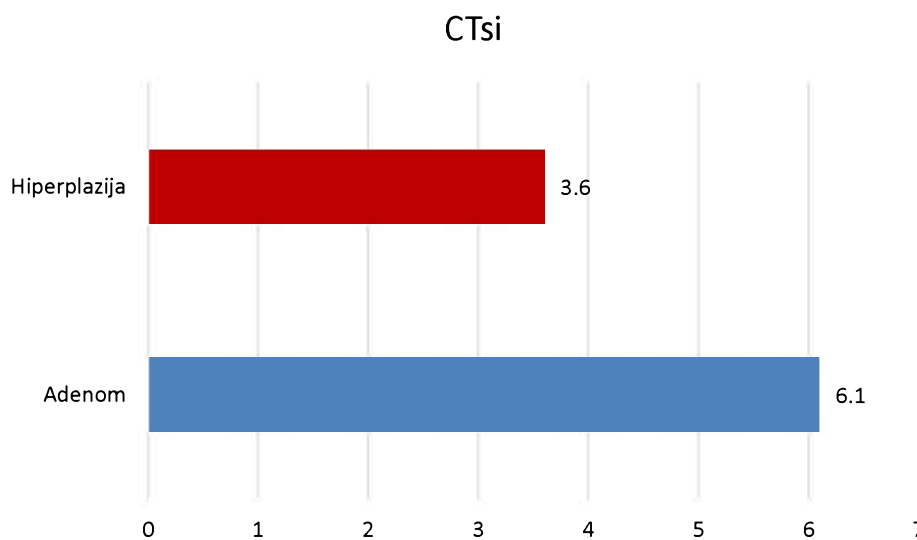
Ipak, prije paratiroidnektomije, stimulisani porast CT (CTsi) je bio izraženiji kod pacijenata sa adenomom u odnosu na pacijente sa hiperplazijom, ali nije dostigao statističku značajnost (CTsi: 3.1 [1-6.0] vs. 2.6 [1.1-5.6] puta porast u odnosu na bazalne vrijednosti, $p = 0.085$) (grafikon 10).



Skraćenice: CTsi, stimulisani porast CT.

Grafikon 10. Stimulisani porast CT (CTsi) prije paratiroidnektomije kod pacijenata sa adenomom i hiperplazijom PTŽ

Nakon paratiroidektomije, stimulisane vrijednosti CT, CTsi, su bile značajno više, kod pacijenata sa adenomom u odnosu na pacijente sa hiperplazijom (CTsi: 6.1 (1.5-14.6) vs. 3.6 (1.9-6.4), $p=0.007$) (grafikon 11).

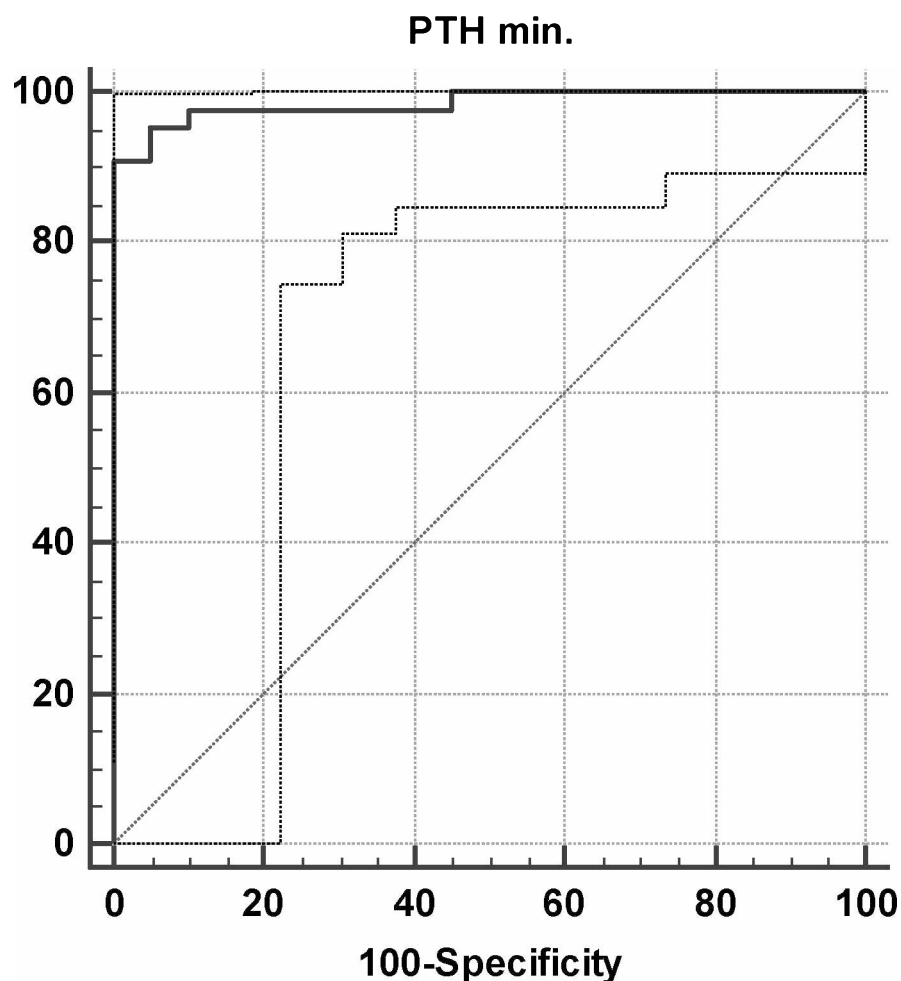


Skraćenice: CTsi, stimulisani porast CT.

Grafikon 11. Stimulisani porast CT (CTsi) poslije paratiroidektomije kod pacijenata sa adenomom i hiperplazijom PTŽ

Za generisanje optimalnih graničnih vrijednosti PTH i CT koje bi mogle razlikovati pacijente sa dijagnozom PHPT od zdravih ispitanika sprovedena je analiza ROC krive (slika 8 i 9, redom).

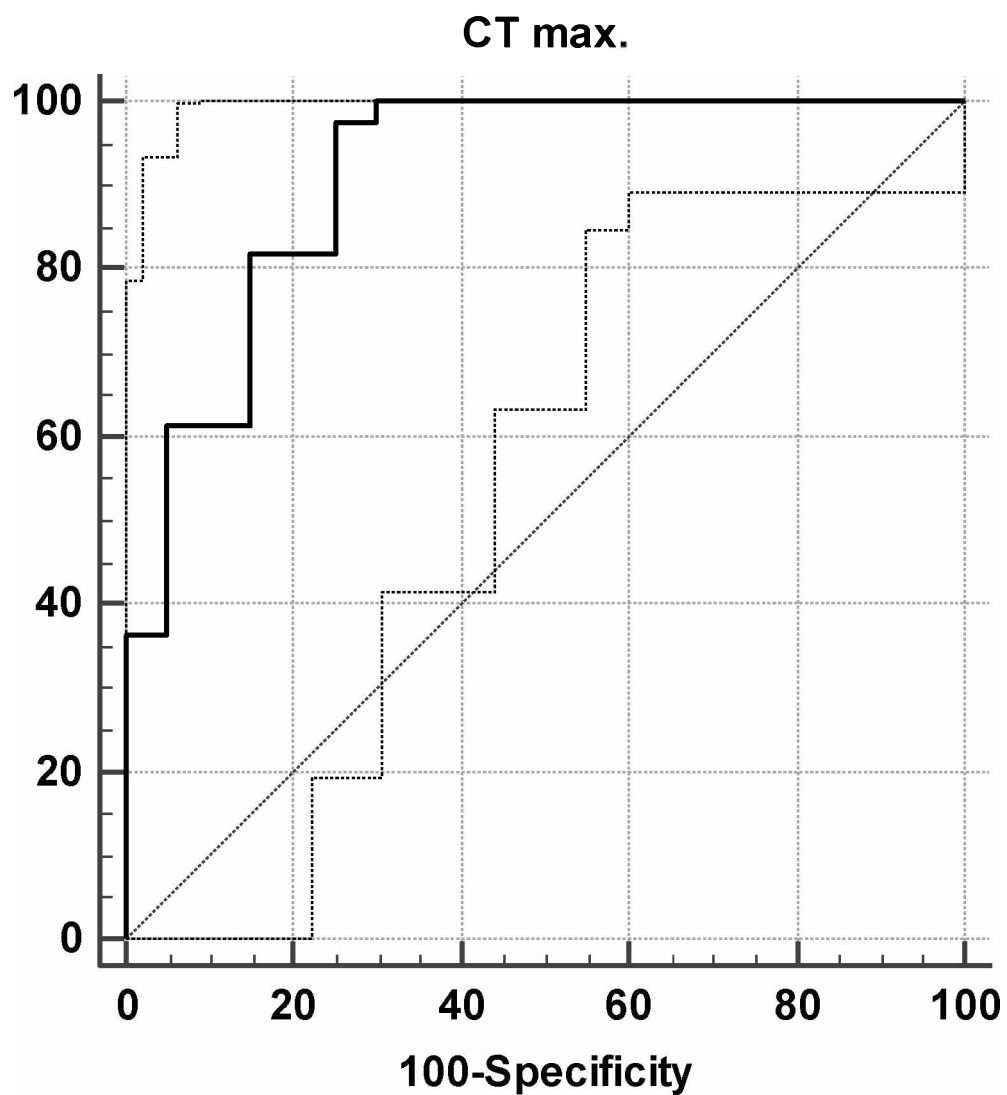
Granična vrijednost PTHmin (najniži dostignuti nivo PTH) tokom CIT-a >19.3 ng/l, sa osjetljivošću 90.9 % i specifičnošću 100% ukazuje na PHPT (AUC 0.985, 95% CI: 0.962-1, $p < 0.001$) (slika 8).



Skraćenice: AUC (“area under the curve”), površina ispod krive; HC (“healthy control”), zdrava kontrola; PHPT, primarni hiperparatiroidizam; PTHmin, PTH minimum.

Slika 8. Površina ispod krive (AUC [“*area under the curve*”]) za PTHmin koji razlikuje pacijente sa PHPT u odnosu na HC grupu.

Granična vrijednosti za CTmax (maksimalna dostignuta vrijednost CT-a tokom CIT-a) ≤ 27.5 ng/l ukazuje na PHPT sa osjetljivošću 97.73% i specifičnošću od 75% (AUC 0.91, 95% CI: 0.827 do 0.994, $p < 0.001$) (slika 9).



Skraćenice: AUC (“area under the curve”), površina ispod krive; CT, kalcitonin; CTmax, CT maximum; HC (“healthy control”), zdrava kontrola; PHPT, primarni hiperparatiroidizam.

Slika 9. Površina ispod krive (AUC [“*area under the curve*”]) za CTmax koji razlikuje pacijente sa PHPT u odnosu na HC grupu.

Nije bilo statistički značajnih graničnih (“*cut off*”) vrijednosti za PTHmin, CT max i CTsi za predviđanje patohistološkog nalaza, adenoma vs. hiperplazije ($p=0.83$, $p=0.96$, and $p=0.09$, redom).

5. DISKUSIJA

Naše istraživanje je pokazalo da su nivoi supresije PTH, maksimalne dostignute vrijednosti CT (CT_{max}), kao i stimulisani porast CT (CT_{si}) tokom CIT-a, korisni za dijagnostiku PHPT, ali je takođe potvrdilo da se bazalne vrijednosti CT ne mogu koristiti u dijagnostičke svrhe.

Stimulisani nivoi CT nakon brze Ca infuzije su bili veći (sa graničnom statističkom značajnošću) kod PHPT pacijenata sa adenomom u poređenju sa pacijentima kod kojih je patohistološki verifikovana hiperplazija PTŽ. Dalje, pacijenti sa patohistološki potvrđenim adenomom su imali statistički značajno niže bazalne vrijednosti CT u poređenju sa pacijentima sa hiperplazijom, i prije i nakon paratiroidektomije.

Postojale su inicijalne pretpostavke na osnovu rezultata nekih studija, da ćelije paratiroidnih adenoma i normalne paratiroidne ćelije reaguju na skoro isti način na promjene nivoa ekstracelularnog Ca²⁺ (114).

Opterećenje Ca suprimuje sekreciju PTH i kod adenomatoznih ćelija PTŽ (91) i kod normalnih, neizmijenjenih paratiroidnih ćelija (115).

Iako je Ca-indukovana supresija nivoa PTH u serumu kod pacijenata sa PHPT bila predmet istraživanja u prošlosti (86, 89, 116-120), dosadašnji rezultati nijesu konzistentni. Inicijalne studije su već u samom početku otvorile sumnju da bi testovi opterećenja sa Ca mogli imati značaja u dijagnostici PHPT (117). Ipak, rezultati nekih studija su ukazivali na smanjenu senzitivnost CaSR na promjene nivoa ekstracelularnog Ca kod pacijenata sa PHPT (121).

Sorensen *i saradnici* (86) su sproveli studiju u kojoj su ispitali međusobni odnos indukovane hiperkalcemije i serumskog intaktnog PTH kod zdravih (14 ispitanika) i kod pacijenata sa PHPT (10 pacijenata) metodom Ca-klamp tehnike. Podešavanjem brzine infuzije, nivo Ca je održavan 0.25-0.30 mmol/l iznad gornjeg referentnog opsega. Kod pacijenata sa PHPT nivo PTH je suprimovan za oko 53%, u poređenju sa zdravim ispitanicima kod kojih je PTH suprimovan za oko 73% ($p < 0.001$) (86). Uočena razlika u paratiroidnoj sekretornoj aktivnosti, nakon izlaganja povišenim nivoima Ca (iznad

fizioloških), može biti korisna u evaluaciji sumnje na PHPT čak i kod pacijenata sa nivoom PTH koji je u referentnom opsegu (normohormonalni PHPT) (86).

Titon *i saradnici* (119) su u njihovoj studiji demonstrirali da se PTH supresioni test (0.33 mmol/kg TM Ca glukonata intravenski tokom 3h) čini dovoljno pouzdanim da razlikuje pacijente sa PHPT od zdrave populacije. Prema rezultatima njihove studije, granična vrijednost PTH >14 ng/l na kraju CIT-a se može smatrati dijagnostičkom za PHPT, sa senzitivnošću 92% i specifičnošću 92% (119). Takođe, u njihovoj studiji je procenat supresije PTH tokom testa opterećenja Ca bio niži kod pacijenata sa PHPT u poređenju sa zdravim ispitanicima (64 vs. 73%) (119), što je konzistentno sa rezultatima našeg istraživanja. Procenat supresija PTH u našoj studiji je bio oko 50% u PHPT grupi i 64% u grupi zdravih ispitanika ($p=0.006$). Bitno je istaći da je CIT u našoj studiji, u poređenju sa testom Titona *i saradnika*, bio jednostavniji za izvođenje, bezbjedan i kraćeg trajanja (10 min).

Takođe, naše istraživanje je pokazalo da se granična vrijednost PTH >19.3 ng/l može razmotriti u svrhe postavljanja dijagnoze PHPT sa senzitivnošću 91% i specifičnošću 100%. Iako se metodologija izvođenja CIT-ova razlikovala između istraživanja, rezultati definitivno pokazuju (posebno, naše istraživanje i studija Titona *i saradnika*) slične dostignute serumske nivoe Ca^{2+} na kraju CIT-a.

Lips *i saradnici* (87) su takođe sproveli slično istraživanje na 9 pacijenata sa dijagnozom PHPT i 12 zdravih ispitanika. U njihovoj studiji, u kojoj je CIT metodološki vrlo sličan našem (2.5 mg/kg TM tokom 30 sekundi), su pokazali da opterećenje Ca snižava nivo PTH za 49% kod pacijenata sa PHPT i 60% kod zdravih ispitanika, što je takođe u potpunosti konzistentno sa našim rezultatima (PTHsup[%] 49.8% kod pacijenata sa PHPT nasuprot 64.1% kod zdravih ispitanika).

Zhao *i saradnici* (120) su demonstrirali u njihovoj studiji ($n=133$ pacijenta podijeljenih u tri grupe: hirurški potvrđeni hiperkalcijemijski PHPT, hirurški potvrđeni sa blagom formom PHPT, i pacijenti sa normokalcijemijom i povišenim vrijednostima PTH), da PTH supresija <73% može razlikovati pacijente sa blagom formom PHPT u odnosu na zdrave ispitanike, sa senzitivnošću 95% i specifičnošću 99.9% ($p<0.001$).

Zhu i saradnici (122) su u svojoj studiji dobili slične rezultate, PTH supresija $<71.26\%$ se može koristiti za razlikovanje pacijenata sa PHPT u odnosu na zdrave ispitanike, sa senzitivnošću 89.3% i specifičnošću 95.7% ($p < 0.001$).

U našem istraživanju, PTH supresija je bila najizraženija u prvom minutu CIT-a, kada je Ca^{2+} dostigao najviše nivo, dok je u drugom dijelu CIT-a (između petog i desetog minuta) nivo PTH supresije dostigao plato. Nakon paratiroidektomije, nivo PTH je kontinuirano padao od početka do kraja testa, bez primjetnog platoa.

Uprkos tome što su Titon i saradnici (119) demonstrirali da se Ca-indukovana supresija PTH može koristiti u razlikovanju pacijenata sa sporadičnim PHPT u odnosu na zdravu populaciju, takođe su istakli da nivo supresije PTH na kraju CIT-a teško može razlikovati pacijente sa paratiroidnom hiperplazijom u sklopu MEN-a od zdravih ispitanika. Prepostavili su da je ovo vjerovatno posljedica manje senzitivnosti adenomatoznih paratiroidnih ćelija na Ca odnosu na hiperplastične paratiroidne ćelije (119).

Hagag i saradnici (88) su u njihovoj studiji ($n=32$ pacijenta sa PHPT, starosti 56 ± 2 godina; 3h oralni test opterećenja sa 1 gramom Ca [glukonolaktat]) evaluirali preoperativnu ulogu oralnog testa opterećenja Ca u diferencijalnoj dijagnozi između paratiroidnog adenoma i hiperplazije paratiroidnih ćelija. Ca i PTH su mjereni prije i 60, 120 i 180 minuta nakon oralne primene Ca. Autori su sugerisali da oralni test opterećenja Ca može razlikovati PHPT pacijente sa adenomom od PHPT pacijenata sa hiperplazijom (88). Ako se samo uzima u obzir najniža dostignuta vrijednost PTH (PTHmin), supresija PTH nije korisna za predviđanje patohistološkog nalaza kod pacijenata sa PHPT. Procenat supresije PTH tokom CIT-a (PTHsup[%]), u studiji Hagaga i saradnika, u grupi zdravih ispitanika je iznosio oko 62% (88), što je u skladu sa našim rezultatima. Takođe oralni test opterećenja Ca u studiji Hagaga i saradnika, u poređenju sa našim CIT-om, je pokazao manje izraženu supresiju PTH kod pacijenata sa adenomom (38 vs. 52%), uz istovremeno izraženiju supresiju kod PHPT pacijenata sa hiperplazijom PTŽ (58 vs. 49%) (88).

Navedeni rezultati vode razmatranju da ćelije u hiperplaziji odgovaraju slabije, kada je supresija PTH u pitanju, na brze i kratkotrajne promjene nivoa Ca^{2+} (što je karakteristično za

CIT u našem istraživanju) u poređenju sa sporijim i dugotrajnijim promjenama nivoa Ca^{2+} , što je više karakteristično za oralni test opterećenja Ca u studiji Hagaga *i saradnika*.

Suprotno tome, ćelije adenoma PTŽ, kada je u pitanju procenat supresija PTH, bolje odgovaraju tokom parenteralnog CIT-a (u našem istraživanju) u poređenju sa testom opterećenja oralnim preparatima Ca (u studiji Hagaga *i saradnika*). Ova razlika u PTH supresiji između parenteralnog i oralnog testa opterećenja Ca zasluži posebnu pažnju u smislu preoperativne diferencijalne dijagnoze između adenoma i hiperplazije kod pacijenata sa PHPT. Do danas ovakva ispitivanja nijesu sprovedena.

Dalje, Cetani *i saradnici* su u svojoj studiji (91) pratili ekspresiju CaSR imunohistohemijski i tačku podešavanja (“*set point*”) PTH- Ca^{2+} kod pacijenata sa PHPT. U grupi pacijenata sa negativnom ekspresijom CaSR (-) inhibicija PTH sekrecije je iznosila 53.7%, sa slabom ekspresijom CaSR (+) inhibicija je iznosila 57.1%, srednjom ekspresijom CaSR (++) inhibicija je iznosila 52.6%, dok je u grupi sa izraženom ekspresijom CaSR (+++) iznosila 49.9% (91). PTH- Ca^{2+} tačku podešavanja je u istim grupama redom bila: 1.70, 1.48, 1.49 i 1.50 mmol/l (91). Sve grupe su imale sličnu inhibiciju sekrecije PTH između 50-60%, bez obzira na intenzitet ekspresije CaSR na membrani adenomskih ćelija. Inače, očekivano bi bilo da osobe koje imaju veću ekspresiju receptora imaju veću inhibiciju PTH (91). Međutim, na osnovu ovih rezultata se može zaključiti da ekspresija CaSR nije određujući faktor za inhibiciju sekrecije PTH. Takođe u njihovom radu, postojala je statistički značajna razlika u nivou tačke setovanja za inhibiciju PTH između onih sa negativnom CaSR imunohistohemijom (viša tačka “*setovanja*”) u odnosu na one sa slabom do srednjom ekspresijom CaSR (niža tačka “*setovanja*”) (91).

Kod pacijenata sa PHPT, očekivani kompenzatorni odgovor na hiperkalcijemiju je HCT (92). Aktivacija CaSR suprimuje PTH supresiju, dok je sa druge strane sekrecija CT stimulisana preko CaSR (9).

Dalje, aktivacija CaSR sa Ca^{2+} je kritični momenat u pokretanju sekrecije CT-a od strane parafolikularnih C-ćelija tiroidne žlijezde (9).

Neki osnovni principi sekrecije CT su prikazani u animalnim modelima (123, 124). Wang i *saradnici* (123) su prikazali, u animalnoj studiji, da brza indukcija hiperkalcijemije rezultira naglašenijim odgovorom CT u poređenju sa sporim dostizanjem istih nivoa kalcijemije. Takođe, ponavljana stimulacija Ca vodi slabljenju sekretornog odgovora CT, u drugoj animalnoj studiji (123). Ipak, normalizacija nivoa Ca (nakon 2h) vodi poboljšanju sekretornog odgovora CT nakon ponovne stimulacije sa Ca (124).

U nedavnoj studiji (111), HCT je verifikovana kod 8.6% pacijenata sa PHPT, sa medijanom bazalnih nivoa CT 4 ng/l. U drugoj studiji, HCT u bazalnim uslovima je bila vrlo rijetka kod pacijenata sa PHPT (1.6%) (107). Na osnovu rezultata, autori za zaključili da HCT nije čest nalaz kod pacijenata sa PHPT, i da je bez ikakvog odnosa sa kliničkim odrednicama i laboratorijskim nalazima ove bolesti (107, 111).

U našoj studiji je bazalna HCT bila nešto češća kod pacijenata sa PHPT (18.2%), sa diskretno nižim nivoima bazalnog CT kod pacijenata sa PHPT u poređenju sa zdravim ispitanicima (5.0 vs. 5.9 ng/l). Međutim ova razlika nije dostigla statističku značajnost, što je u skladu sa gore navedenim studijama (107, 111).

Međutim, većina studija je pokazala da hiperkalcijemija vodi depleciji sadržaja CT u parafolikularnim C-ćelijama i depleciji serumskog CT, ali mehanizmi do sada nijesu razjašnjeni (104-107).

Neki podaci su takođe sugerisali da visoke koncentracije PTH kod pacijenata sa PHPT mogu imati direktni supresivni efekat na nivo CT (110). Očigledno da ova deplecija CT nije dovoljno značajna da bi se koristila u smislu dijagnoze PHPT, ali može biti korisna u predviđanju patohistološkog nalaza, tj. da li se radi o adenomu ili hiperplaziji PTŽ.

Tiegs i *saradnici* su istraživali efekte kratkotrajne infuzije Ca (n=16 pacijenata, 2 mg Ca/kg TM, ordinirana tokom 5 minuta) na sekreciju CT kod pacijenata sa PHPT, i pokazali redukovani CT odgovor u odnosu na zdrave ispitanike (104).

Slični rezultati su dobijeni i korištenjem Ca-klamp tehnike u drugoj grupi pacijenata sa blagom formom PHPT (7 postmenopauzalnih žena sa PHPT i 14 zdravih ispitanica), što u

isto vrijeme može značiti oslabljenu odbranu od PTH-posredovane resorpcije kosti koja se viđa kod bolesnika sa PHPT (125).

Bevilacqua i *saradnici* (112) su u svojoj studiji sprovedi oralni Ca test (korišten jedan gram Ca glukonata, 13 pacijenata sa adenomom i 2 pacijenta sa hiperplazijom), i demonstrirali oslabljen CT odgovor kod pacijenata sa PHPT, u poređenju sa zdravim ispitanicima ($p < 0.05$).

Relativno niske vrijednosti nivoa CT u PHPT mogu reflektovati smanjenje sinteze, skladištenja i/ili sekrecije CT u hroničnom hiperkalcijemijskom stanju, ili promjenu “*tačke setovanja*” za sekreciju CT (109).

Naši rezultati su bili u skladu sa svim gore navedenim rezultatima. Potvrdili smo oslabljen CT odgovor tokom CIT-a. Preciznije, u grupi zdravih ispitanika dobili smo porast serumskog CT osam puta, dok smo kod pacijenata sa PHPT dobili porast CT tri puta u odnosu na bazalne vrijednosti, što jasno ukazuje na atenuiran CT odgovor kod pacijenata sa PHPT.

Moguća objašnjenja za oslabljen sekretorni odgovor CT na opterećenje Ca su iscrpljenost sekvence sinteza-skladištenje-sekrecija CT-a u parafolikularnim tiroidnim C-ćelijama i/ili njegova desenzitizacija na Ca (125).

Takođe smo dobili rezultat da maksimalni postignuti nivo CT tokom CIT-a < 27.5 ng/l, može imati prediktivnu vrijednost za dijagnozu PHPT, sa senzitivnošću 98% i specifičnošću 75%. Do sada CTmax (maksimalni postignuti nivo CT tokom CIT-a) nije evaluiran u ove svrhe u ranijim studijama.

Neki autori su istraživali kako paratiroidektomija mijenja nivo CT kod pacijenata sa PHPT. Dvije studije su evaluirale odgovor CT u manjim grupama pacijenata sa PHPT (106, 113).

Lambert i *saradnici* su u njihovom istraživanju (sprovedeno na 22 pacijenta preoperativno i 6 pacijenata postoperativno) pokazali oslabljen sekretorni odgovor CT tokom infuzije Ca (Ca infuzija 15 mg Ca/kg TM tokom 4 h), ali se odgovor popravio nakon paratiroidektomije (113).

Taboli i saradnici (106) su takođe upoređivali bazalne vrijednosti CT prije i nakon operativnog liječenja, paratiroidnektomije, kod 18 pacijenata sa PHPT. Zaključili su da je sniženi intraćelijski sadržaj CT u parafolikularnim C-ćelijama posljedica produženog perioda hiperkalcijemije (106). Ipak, njihova studija je imala određena ograničenja. Naime, uključili su samo bolesnike koji su u osnovi imali adenome PTŽ. Takođe, bitno ograničenje u njihovom istraživanju je bilo da su Ca-stimulisani nivoi CT procijenjivani samo prije operacije, dok su poslije operacije određivane samo bazalne vrijednosti CT (106).

Sigmoidna kriva je najbolji način za prikazivanje veze između Ca^{2+} i CT; u animalnim modelima nakon paratiroidnektomije CT- Ca^{2+} sigmoidna kriva se pomjera u pravcu tipičnom za zdrave ispitanike (126).

U našem istraživanju, odgovor CT tokom CIT-a se oporavio nakon paratiroidnektomije takođe, ali ne do nivoa kao kod zdravih ispitanika. Mogući razlog je da je CIT ponovljen rano (jedan mjesec nakon paratiroidnektomije) i moguće da taj period nije bio dovoljan za kompletan oporavak sekretornog odgovora CT tokom CIT-a.

Studije koje bi evaluirale značaj preoperativnih stimulisanih vrijednosti CT tokom CIT-a, u cilju diferencijalne dijagnoze između postojanja adenoma i hiperplazije PTŽ, prema našim saznanjima do sada nijesu sprovedene.

U ovom kontekstu, u našem istraživanju smo našli statistički značajno niže bazalne nivoe CT preoperativno kod PHPT pacijenata sa adenomom u poređenju sa PHPT pacijentima sa hiperplazijom PTŽ.

Nasuprot tome, stimulisani porast CT (CTsi) preoperativno je bio izraženiji kod pacijenata sa adenomom, sa graničnom statističkom značajnošću. Postoperativno, nivoi CT tokom CIT-a su bili statistički značajno viši tokom prve polovine testa (kada se nivo Ca mijenja veoma brzo) kod pacijenata sa paratiroidnim adenomom u poređenju sa pacijentima sa hiperplazijom PTŽ, dok su se u drugom dijelu testa nivoi CT izjednačili u oba patohistološka entiteta.

Moguće je da su parafolikularne C-ćelije kod pacijenata sa hiperplazijom PTŽ više iscrpljene tokom hronične hiperkalcijemije, kojoj su izložene u PHPT, i zbog toga i manje osjetljive na dodatne brze promjene Ca tokom stimulacije, u odnosu na ćelije adenoma. Navedena observacija zaslužuje svakako dalje razjašnjenje.

Izrazita prednost našeg istraživanja je činjenica da je ovo bilo prospektivno istraživanje koje je uključilo najveći broj pacijenata sa PHPT, prema našim saznanjima, i kojima je urađen CIT i prije i nakon paratiroidektomije. Drugo, po prvi put su praćeni nivoi PTH i CT zajedno tokom CIT-a, u istoj grupi pacijenata u cilju dijagnoze PHPT, kao i diferencijalne dijagnoze između adenoma i hiperplazije PTŽ.

Jedno od ograničenja našeg istraživanja je to da je sprovedeno u jednom medicinskom centru, što može uticati na reprezentativnost ispitivanog uzorka tj. grupe pacijenata.

Drugo, obzirom da broj pacijenata sa hiperplazijom nije bio veliki i da nije bilo pacijenata muškog pola u ovoj grupi, nijesmo bili u mogućnosti da evaluiramo polne razlike.

Treće, u PHPT grupi nijesmo imali pacijente sa najblažim formama PHPT, sa vrijednostima Ca i PTH pri gornjim granicama referentnih vrijednosti u kojima bi navedeni test bio od izuzetne važnosti.

Četvrto ograničenje ovog pristupa je to da postoperativni rezultati CIT-a, kada je u pitanju PTH, mogu biti značajno promijenjeni ekstenzivnom hirurgijom (kao što je subtotalna paratiroidektomija kod pacijenata sa hiperplazijom PTŽ), zbog različite količine rezidualnog paratiroidnog tkiva nakon paratiroidektomije. Ipak, u našem istraživanju, paratiroidektomija jedne PTŽ je izvođena kod svih pacijenata sa adenomom. Kod pacijenata sa hiperplazijom, na osnovu patohistološke analize, kod osam pacijenata je uklonjena jedna PTŽ, dok su kod dva pacijenta uklonjene dvije PTŽ. Stoga poslednje navedeno ograničenje nije bilo od posebnog značaja za naše istraživanje.

Takođe je bitno istaći da nivo vitamina D takođe može mijenjati sekreciju PTH preko nukleusnog VDR (127).

U našem istraživanju nijesmo klasifikovali pacijente prema nivou vitamina D (zbog manjeg broja pacijenata i rizika dobijanja malih grupa za statistička poređenja) i dalje procjenjivali efekat vitamina D na PTH i CT odgovor tokom CIT-a. Svakako, tokom inicijalne evaluacije pacijenata smo isključili pacijente sa deficitom vitamina D u serumu, što značajno umanjuje značaj nivoa vitamina D u našem istraživanju.

U PHPT izraženija aktivnost 1-alfa hidroksilaze zbog povećanih nivoa PTH dovodi do veće produkcije aktivne forme vitamina D, 1,25 dihidroksivitamina D.

Pod normalnim okolnostima, kod zdravih, viši nivoi aktivne forme vitamina D vrše supresiju PTH, preko nukleusnog VDR u glavnim ćelijama PTŽ ili preko promjene PTH- Ca^{2+} tačke “setovanja”. Takođe se može razmatrati mogućnosti da u PHPT moguće postoji parcijalna ili potpuna rezistencija na dejstvo vitamina D u promijenjenim adenomatoznim paratiroidnim ćelijama.

Rezistencija na dejstvo vitamin D može značiti i smanjen broj nukleusnih VDR za vitamin D u adenomatozno promijenjenim ćelijama. Zbog toga 1,25 dihidroksivitamin D ne bi mogao preko svog steroidnog receptora povećavati ekspresiju CaSR na membrani i posljedično snižavati PTH- Ca^{2+} tačku “setovanja”. Iz tog razloga smanjeni efekat 1,25 dihidroksivitamina D bi posljedično mogao voditi povećavanju PTH- Ca^{2+} tačke “setovanja”.

Međutim, kada se jednom dostigne prag za inhibiciju putem CaSR, mehanizam vjerovatno ide po principu “sve ili ništa”, i suprimuje PTH na isti način i kod adenomatoznih i kod zdravih ćelija PTŽ. Zaštitni mehanizam inhibicije PTH putem 1,25 dihidroksivitamina D u PHPT moguće da ne postoji ili je oslabljen zbog rezistencije na vitamin D u adenomatoznim ćelijama.

Ova razmatranja su u skladu sa radovima Browna i *saradnika* (128) koji su ispitivali uticaj vitamina D na ekspresiju CaSR u animalnim modelima. U njihovom radu CaSR mRNK, ne varira značajno sa nivoom Ca i PTH, indukujući pretpostavku da hipokalcijemija i HPT ne mijenjaju ekspresiju CaSR. Ishrana deficijentna vitaminom D, dovodi kod miševa do slabije

ekspresije CaSR mRNA. Kada se miševima vrati ishrana bogata vitaminom D, to dovodi do porasta CaSR mRNA (128).

6. ZAKLJUČCI

1. Kod pacijenata sa PHPT ne postoji statistički značajna povezanost između nivoa PTH i CT u bazalnim uslovima, kao ni tokom vremena CIT-a, prije i nakon paratiroidektomije. Prije paratiroidektomije ne postoje statistički značajne korelacije između nivoa Ca^{2+} i CT u bazalnim uslovima, kao ni tokom vremena CIT-a. Takođe, nakon paratiroidektomije ne postoje statistički značajne korelacije između nivoa Ca^{2+} i CT u bazalnim uslovima, kao ni tokom vremena CIT-a.
2. Supresija nivoa PTH, tokom CIT-a, kod pacijenata sa PHPT je manja u odnosu na supresiju PTH kod zdravih ispitanika.
3. Sekretorni odgovor CT, tokom CIT-a, kod pacijenata sa PHPT je oslabljen u odnosu na sekretorni odgovor CT kod zdravih ispitanika.
4. Prije paratiroidektomije, kod pacijenata sa PHPT, supresija PTH tokom CIT-a je manja u odnosu na supresiju kod zdravih ispitanika. Nakon paratiroidektomije, tokom CIT-a se mijenja supresija PTH i postaje izraženija u odnosu na supresiju prije paratiroidektomije i supresiju kod zdravih ispitanika.
5. Prije paratiroidektomije, kod pacijenata sa PHPT, sekretorni odgovor CT tokom CIT-a je oslabljen u odnosu na sekretorni odgovor CT kod zdravih ispitanika. Nakon paratiroidektomije, sekretorni odgovor CT tokom CIT-a se oporavlja u odnosu na odgovor prije paratiroidektomije, ali ne do nivoa kao kod zdravih ispitanika.
6. Između PHPT pacijenata sa adenomom i hiperplazijom, ne postoji razlika između bazalnih nivoa Ca^{2+} , Phos i PTH. Između PHPT pacijenata sa adenomom i PHPT pacijenata sa hiperplazijom, tokom ispitivanih vremena CIT-a ne postoji razlika između nivoa PTH. Kod pacijenata sa PHPT, ne postoji razlika u PTH supresiji

između pacijenata sa adenomom i hiperplazijom prije, kao ni nakon paratiroidektomije.

7. Kod PHPT pacijenata sa adenomom nivo bazalnog CT je značajno niži u poređenju sa nivoom CT kod PHPT pacijenata sa hiperplazijom, i prije i nakon paratiroidektomije. Tokom ispitivanih tačaka CIT-a, kod pacijenata sa PHPT prije paratiroidektomije, nivo CT se ne razlikuje između pacijenata sa adenomom i pacijenata sa hiperplazijom. Nakon paratiroidektomije, tokom prve polovine CIT-a (prvih pet minuta testa) pacijenti sa hiperplazijom su imali više nivoe CT u odnosu na pacijente sa adenomom, dok se u drugoj polovini CIT-a (drugih pet minuta testa) nivoi CT između pacijenata sa adenomom i pacijenata sa hiperplazijom ne razlikuju.
8. Granična vrijednost (*"cut off"*) >19.3 ng/l za PTHmin (najniža dostignuta vrijednost PTH tokom CIT-a) može imati značaj u dijagnostici PHPT.
9. Granična vrijednost (*"cut off"*) ≤ 27.5 ng/l za CTmax (maksimalna dostignuta vrijednost CT tokom CIT-a) može imati značaj u dijagnostici PHPT.

7. LITERATURA

- 1) Tattera D, Wong LM, Vikse J, Sanna B, Pękala P, Walocha J, et al. The prevalence and anatomy of parathyroid glands: a meta-analysis with implications for parathyroid surgery. *Langenbecks Arch Surg.* 2019;404(1):63-70. doi: 10.1007/s00423-019-01751-8.
- 2) Scharpf J, Kyriazidis N, Kamani D, Randolph G. Anatomy and embryology of the parathyroid gland. *Oper Tech Otolaryngol Head Neck Surg.* 2016;27(3):117-21. doi: 10.1016/j.otot.2016.06.003.
- 3) Fancy T, Gallagher D 3rd, Hornig JD. Surgical anatomy of the thyroid and parathyroid glands. *Otolaryngol Clin North Am.* 2010;43(2):221-27. doi: 10.1016/j.otc.2010.01.001.
- 4) Phitayakorn R, McHenry CR. Incidence and location of ectopic abnormal parathyroid glands. *Am J Surg* 2006;191:418-23. doi: 10.1016/j.amjsurg.2005.10.049.
- 5) Ritter CS, Haughey BH, Miller B, Brown AJ. Differential gene expression by oxyphil and chief cells of human parathyroid glands. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:E1499-E1505. doi:10.1210/jc.2011-3366.
- 6) Brown MB, Limaïem F. Histology, Parathyroid Gland. [Updated 2021 May 10]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546596/>.
- 7) Khan YS, Farhana A. Histology, Thyroid Gland. [Updated 2021 Dec 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551659/>.

- 8) Tashjian AH, Wolfe HJ, Voelkl EF. Human calcitonin: immunologic assay, cytologic localization and studies on medullary thyroid carcinoma. *Am J Med.* 1974;56:840-9. doi: 10.1016/0002-9343(74)90813-4.
- 9) Felsenfeld AJ, Levine BS. Calcitonin, the forgotten hormone: does it deserve to be forgotten? *Clin Kidney J.* 2015;8(2):180-7. doi: 10.1093/ckj/sfv011.
- 10) Yu E, Sharma S. Physiology, Calcium. [Updated 2021 Aug 27]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482128/>.
- 11) Drake TM, Gupta V. Calcium. [Updated 2021 May 9]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557683/>.
- 12) Kasper DL, Fauci AS, Hauser S, et al, editors. Harrison's principles of internal medicine, 19th ed. [monograph on the Internet]. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.; 2015 [cited 2022 Jan 30].
- 13) Aslan D, Andersen MD, Gede LB, de Franca TK, Jørgensen SR, Schwarz P, et al. Mechanisms for the bone anabolic effect of parathyroid hormone treatment in humans. *Scand J Clin Lab Invest.* 2012;72:14-22. doi: 10.3109/00365513.2011.624631.
- 14) Murray TM, Rao LG, Divieti P, Bringham FR. Parathyroid hormone secretion and action: evidence for discrete receptors for the carboxyl-terminal region and related biological actions of carboxyl-terminal ligands. *Endocr Rev.* 2005;26:78-113. doi: 10.1210/er.2003-0024.
- 15) Habener JF, Rosenblatt M, Potts JT Jr. Parathyroid hormone: biochemical aspects of biosynthesis, secretion, action, and metabolism. *Physiol Rev.* 1984;64(3):985-1053. doi: 10.1152/physrev.1984.64.3.985.

- 16) Lombardi G, Ziemann E, Banfi G, Corbetta S. Physical Activity-Dependent Regulation of Parathyroid Hormone and Calcium-Phosphorous Metabolism. *Int J Mol Sci.* 2020;21:5388. doi: 10.3390/ijms21155388.
- 17) Silver J, Naveh-Many T. FGF23 and the parathyroid glands. *Pediatr Nephrol.* 2010;25(11):2241-5. doi: 10.1007/s00467-010-1565-3.
- 18) Conigrave AD. The Calcium-Sensing Receptor and the Parathyroid: Past, Present, Future. *Front Physiol.* 2016;7:563. doi:10.3389/fphys.2016.00563
- 19) Kumar R, Thompson JR. The regulation of parathyroid hormone secretion and synthesis. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22(2):216-24. doi:10.1681/ASN.2010020186.
- 20) Ramirez JA, Goodman WG, Gornbein J, Menezes C, Moulton L, Segre GV, et al. Direct in vivo comparison of calcium-regulated parathyroid hormone secretion in normal volunteers and patients with secondary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;76(6):1489-94. doi: 10.1210/jcem.76.6.8501155.
- 21) Hofer AM, Brown EM. Extracellular calcium sensing and signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003;4(7):530-8. doi: 10.1038/nrm1154.
- 22) Morrissey JJ, Cohn DV. Secretion and degradation of parathormone as a function of intracellular maturation of hormone pools. Modulation by calcium and dibutyryl cyclic AMP. *J Cell Biol.* 1979;83(3):521-8. doi: 10.1083/jcb.83.3.521.
- 23) Park H, Park SY, Park J, Choe JH, Chung MK, Woo SY, et al. Prognostic Value of Preoperative Serum Calcitonin Levels for Predicting the Recurrence of Medullary Thyroid Carcinoma. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:749973. doi: 10.3389/fendo.2021.749973.

- 24) Goldfield EB, Braiker BM, Prendergast JJ, Kolb FO. Synthetic salmon calcitonin. Treatment of Paget's disease and osteogenesis imperfecta. JAMA. 1972;221(10):1127-9. doi: 10.1001/jama.221.10.1127.
- 25) Parfitt AM. Calcium homeostasis. In: Mundy GR, Martin TJ (eds) Physiology and Pharmacology of bone. Handbook Exp Pharm 107. Springer-Verlag, Berlin; 1993:1-65.
- 26) Hirsch PF, Lester GE, Talmage RV. Calcitonin, an enigmatic hormone: does it have a function? J Musculoskelet Neuronal Interact. 2001;1(4):299-305.
- 27) Gruber HE, Ivey JL, Baylink DJ, Matthews M, Nelp WB, Sisom K, et al. Long-term calcitonin therapy in postmenopausal osteoporosis. Metabolism. 1984;33(4):295-303. doi: 10.1016/0026-0495(84)90187-2.
- 28) Talmage RV, Grubb SA, Norimatsu H, Vanderziel CJ. Evidence for an important physiological role for calcitonin. Proc Natl Acad Sci U S A. 1980;77(1):609-13. doi: 10.1073/pnas.77.1.609.
- 29) Mun HC, Leach KM, Conigrave AD. L-Amino Acids Promote Calcitonin Release via a Calcium-Sensing Receptor: Gq/11-Mediated Pathway in Human C-Cells. Endocrinology. 2019;160(7):1590-99. doi: 10.1210/en.2018-00860.
- 30) Bianchi C, Bocci V, Carone FA, Rabkin R (eds): Kidney and Proteins in Health and Disease. 5th International Symposium of Nephrology, Montecatini Terme, July 1987. Contrib Nephrol. Basel, Karger, 1988, vol 68, pp 12-18. doi: 10.1159/000416486.
- 31) Gil Á, Plaza-Diaz J, Mesa MD. Vitamin D: Classic and Novel Actions. Ann Nutr Metab. 2018;72(2):87-95. doi: 10.1159/000486536.
- 32) Choi KC, Jeung EB. Molecular mechanism of regulation of the calcium-binding protein calbindin-D9k, and its physiological role(s) in mammals: a review of

- current research. *J Cell Mol Med*. 2008;12(2):409-20. doi:10.1111/j.1582-4934.2007.00209.x.
- 33) Takahashi N, Udagawa N, Suda T. Vitamin D endocrine system and osteoclasts. *Bonekey Rep*. 2014;3:495. doi: 10.1038/bonekey.2013.229.
- 34) Jones G. Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *Am J Clin Nutr*. 2008;88(2):582S-586S. doi: 10.1093/ajcn/88.2.582S.
- 35) Nishimura A, Shinki T, Jin CH, Ohyama Y, Noshiro M, Okuda K, et al. Regulation of messenger ribonucleic acid expression of 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3-24-hydroxylase in rat osteoblasts. *Endocrinology*. 1994;134:1794-9. doi: 10.1210/endo.134.4.8137744.
- 36) Brown RB, Razzaque MS. Dysregulation of phosphate metabolism and conditions associated with phosphate toxicity. *Bonekey Rep*. 2015;4:705. doi:10.1038/bonekey.2015.74.
- 37) Perwad F, Portale AA. Vitamin D metabolism in the kidney: regulation by phosphorus and fibroblast growth factor 23. *Mol Cell Endocrinol*. 2011;347(1-2):17-24. doi: 10.1016/j.mce.2011.08.030.
- 38) Walker MD, Silverberg SJ. Primary hyperparathyroidism. *Nat Rev Endocrinol*. 2018;14(2):115-25. doi:10.1038/nrendo.2017.104.
- 39) Bollerslev J, Rejnmark L, Marcocci C, Shoback DM, Sitges-Serra A, van Biesen W, et al.; European Society of Endocrinology. European Society of Endocrinology Clinical Guideline: Treatment of chronic hypoparathyroidism in adults. *Eur J Endocrinol*. 2015;173(2):G1-20. doi: 10.1530/EJE-15-0628.
- 40) Cope O. The study of hyperparathyroidism at the Massachusetts General Hospital. *N Engl J Med*. 1966;274(21):1174-82. doi: 10.1056/NEJM196605262742105.

- 41) Walker MD, Bilezikian JP. Primary Hyperparathyroidism. [Updated 2021 Apr 19]. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278923/>
- 42) Yeh MW, Ituarte PH, Zhou HC, Nishimoto S, Liu IL, Harari A, et al. Incidence and prevalence of primary hyperparathyroidism in a racially mixed population. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(3):1122-9. doi: 10.1210/jc.2012-4022.
- 43) Bendz H, Sjödin I, Toss G, Berglund K. Hyperparathyroidism and long-term lithium therapy-a cross-sectional study and the effect of lithium withdrawal. *J Intern Med.* 1996;240(6):357-65. doi: 10.1046/j.1365-2796.1996.28864000.x.
- 44) Rao SD, Frame B, Miller MJ, Kleerekoper M, Block MA, Parfitt AM. Hyperparathyroidism following head and neck irradiation. *Arch Intern Med.* 1980;140(2):205-207.
- 45) Paik JM, Curhan GC, Taylor EN. Calcium intake and risk of primary hyperparathyroidism in women: prospective cohort study. *BMJ.* 2012;345:e6390. doi: 10.1136/bmj.e6390.
- 46) Blau JE, Simonds WF. Familial Hyperparathyroidism. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:623667. doi: 10.3389/fendo.2021.623667.
- 47) Lourenço DM Jr, Coutinho FL, Toledo RA, Montenegro FL, Correia-Deur JE, Toledo SP. Early-onset, progressive, frequent, extensive, and severe bone mineral and renal complications in multiple endocrine neoplasia type 1-associated primary hyperparathyroidism. *J Bone Miner Res.* 2010;25(11):2382-91. doi: 10.1002/jbmr.125.
- 48) Cetani F, Pardi E, Borsari S, Marcocci C. Molecular pathogenesis of primary hyperparathyroidism. *J Endocrinol Invest.* 2011;34(7 Suppl):35-9.

- 49) Baloch ZW, LiVolsi VA. Pathology of the parathyroid glands in hyperparathyroidism. *Semin Diagn Pathol.* 2013;30(3):165-77. doi: 10.1053/j.semdp.2013.06.003.
- 50) van der Walt J. Pathology of the parathyroid glands. *Diagnostic Histopathology.* 2012;18:221-33. doi: 10.1016/j.mpdhp.2012.03.006.
- 51) Shakeel S, Mubarak M. Proliferative Lesions of Parathyroid Glands: An Update for Practicing Pathologists. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2016;26(1):51-9.
- 52) DeLellis RA. Parathyroid tumors and related disorders. *Mod Pathol.* 2011;24:S78-93. doi: 10.1038/modpathol.2010.132.
- 53) Mizamtsidi M, Nastos C, Mastorakos G, Dina R, Vassiliou I, Gazouli M, et al. Diagnosis, management, histology and genetics of sporadic primary hyperparathyroidism: old knowledge with new tricks. *Endocr Connect.* 2018;7(2):R56-R68. doi: 10.1530/EC-17-0283.
- 54) Bilezikian JP, Cusano NE, Khan AA, Liu JM, Marcocci C, Bandeira F. Primary hyperparathyroidism. *Nat Rev Dis Primers.* 2016;2:16033. doi: 10.1038/nrdp.2016.33.
- 55) Bilezikian JP. Primary Hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018;103(11):3993-4004. doi: 10.1210/jc.2018-01225.
- 56) Silverberg SJ, Clarke BL, Peacock M, Bandeira F, Boutroy S, Cusano NE, et al. Current issues in the presentation of asymptomatic primary hyperparathyroidism: proceedings of the Fourth International Workshop. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(10):3580-94. doi: 10.1210/jc.2014-1415.
- 57) Tay YD, Liu M, Bandeira L, Bucovsky M, Lee JA, Silverberg SJ, et al. Occult urolithiasis in asymptomatic primary hyperparathyroidism. *Endocr Res.* 2018;43(2):106-15. doi: 10.1080/07435800.2018.1431275.

- 58) Cipriani C, Biamonte F, Costa AG, Zhang C, Biondi P, Diacinti D, et al. Prevalence of kidney stones and vertebral fractures in primary hyperparathyroidism using imaging technology. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(4):1309-15. doi: 10.1210/jc.2014-3708.
- 59) Bandeira F, Griz L, Caldas G, Bandeira C, Freese E. From mild to severe primary hyperparathyroidism: The Brazilian experience. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2006;50(4):657-63. doi: 10.1590/s0004-27302006000400011.
- 60) Walker MD, Silverberg SJ. Cardiovascular aspects of primary hyperparathyroidism. *J Endocrinol Invest.* 2008;31(10):925-31. doi: 10.1007/BF03346443.
- 61) Wermers RA, Khosla S, Atkinson EJ, Grant CS, Hodgson SF, O'Fallon WM, et al. Survival after the diagnosis of hyperparathyroidism: a population-based study. *Am J Med.* 1998;104:115-22. doi: 10.1016/s0002-9343(97)00270-2.
- 62) Söreide JA, van Heerden JA, Grant CS, Yau Lo C, Schleck C, Ilstrup DM. Survival after surgical treatment for primary hyperparathyroidism. *Surgery.* 1997;122:1117-23. doi: 10.1016/s0039-6060(97)90216-6.
- 63) Iwata S, Walker MD, Di Tullio MR, Hyodo E, Jin Z, Liu R, et al. Aortic valve calcification in mild primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(1):132-7. doi: 10.1210/jc.2011-2107.
- 64) Pepe J, Curione M, Morelli S, Varrenti M, Cammarota C, Cilli M, et al. Parathyroidectomy eliminates arrhythmic risk in primary hyperparathyroidism, as evaluated by exercise test. *Eur J Endocrinol.* 2013;169(2):255-61. doi: 10.1530/EJE-13-0293.
- 65) Chan AK, Duh QY, Katz MH, Siperstein AE, Clark OH. Clinical manifestations of primary hyperparathyroidism before and after parathyroidectomy. A case-

- control study. *Ann Surg.* 1995;222(3):402-12; discussion 412-414. doi: 10.1097/00000658-199509000-00017.
- 66) Reeder DD, Jackson BM, Ban J, Clendinnen BG, Davidson WD, Thompson JC. Influence of hypercalcemia on gastric secretion and serum gastrin concentrations in man. *Ann Surg.* 1970;172(4):540-6. doi: 10.1097/00000658-197010000-00002.
- 67) Bess MA, Edis AJ, van Heerden JA. Hyperparathyroidism and pancreatitis. Chance or a causal association? *JAMA.* 1980;243(3):246-7.
- 68) Carnaille B, Oudar C, Pattou F, Combemale F, Rocha J, Proye C. Pancreatitis and primary hyperparathyroidism: forty cases. *Aust N Z J Surg.* 1998;68:117-9. doi: 10.1111/j.1445-2197.1998.tb04719.x.
- 69) Jacob JJ, John M, Thomas N, Chacko A, Cherian R, Selvan B, et al. Does hyperparathyroidism cause pancreatitis? A South Indian experience and a review of published work. *ANZ J Surg.* 2006;76(8):740-4. doi: 10.1111/j.1445-2197.2006.03845.x.
- 70) Patten BM, Bilezikian JP, Mallette LE, Prince A, Engel WK, Aurbach GD. Neuromuscular disease in primary hyperparathyroidism. *Ann Intern Med.* 1974;80(2):182-93. doi: 10.7326/0003-4819-80-2-182.
- 71) Turken SA, Cafferty M, Silverberg SJ, De La Cruz L, Cimino C, Lange DJ, et al. Neuromuscular involvement in mild, asymptomatic primary hyperparathyroidism. *Am J Med.* 1989;87(5):553-7. doi: 10.1016/s0002-9343(89)80613-8.
- 72) Silverberg SJ, Bilezikian JP. "Incipient" primary hyperparathyroidism: a "forme fruste" of an old disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(11):5348-52. doi: 10.1210/jc.2003-031014.

- 73) Zhu CY, Sturgeon C, Yeh MW. Diagnosis and Management of Primary Hyperparathyroidism. JAMA. 2020;323(12):1186-7. doi: 10.1001/jama.2020.0538.
- 74) Bollerslev J, Rejnmark L, Zahn A, Heck A, Appelman-Dijkstra NM, Cardoso L, et al; 2021 PARAT Working Group. European Expert Consensus on Practical Management of Specific Aspects of Parathyroid Disorders in Adults and in Pregnancy: Recommendations of the ESE Educational Program of Parathyroid Disorders. Eur J Endocrinol. 2022;186(2):R33-R63. doi: 10.1530/EJE-21-1044.
- 75) Yeh MW, Zhou H, Kuo EJ, Adams AL, Li N, Haigh PI. Biochemical dynamics of untreated primary hyperparathyroidism. Endocr Pract. 2019;25(5):470-6. doi:10.4158/EP-2018-0489.
- 76) Zarei A, Karthik S, Chowdhury FU, Patel CN, Scarsbrook AF, Vaidyanathan S. Multimodality imaging in primary hyperparathyroidism. Clin Radiol. 2022;77(6):e401-16. doi: 10.1016/j.crad.2022.02.018.
- 77) Lee JY, Shoback DM. Familial hypocalciuric hypercalcemia and related disorders. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2018;32(5):609-19. doi: 10.1016/j.beem.2018.05.004.
- 78) Dershem R, Gorvin CM, Metpally RPR, Krishnamurthy S, Smelser DT, Hannan FM, et al.; Regeneron Genetics Center. Familial Hypocalciuric Hypercalcemia Type 1 and Autosomal-Dominant Hypocalcemia Type 1: Prevalence in a Large Healthcare Population. Am J Hum Genet. 2020;106(6):734-47. doi: 10.1016/j.ajhg.2020.04.006.
- 79) Vargas-Poussou R, Mansour-Hendili L, Baron S, Bertocchio JP, Travers C, Simian C, et al. Familial Hypocalciuric Hypercalcemia Types 1 and 3 and Primary Hyperparathyroidism: Similarities and Differences. J Clin Endocrinol Metab. 2016;101(5):2185-95. doi: 10.1210/jc.2015-3442.

- 80) Firek AF, Kao PC, Heath H 3rd. Plasma intact parathyroid hormone (PTH) and PTH-related peptide in familial benign hypercalcemia: greater responsiveness to endogenous PTH than in primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72(3):541-6. doi: 10.1210/jcem-72-3-541.
- 81) Christensen SE, Nissen PH, Vestergaard P, Heickendorff L, Brixen K, Mosekilde L. Discriminative power of three indices of renal calcium excretion for the distinction between familial hypocalciuric hypercalcaemia and primary hyperparathyroidism: a follow-up study on methods. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2008;69(5):713-20. doi: 10.1111/j.1365-2265.2008.03259.x.
- 82) Naramala S, Dalal H, Adapa S, Hassan A, Konala VM. Lithium-induced Hyperparathyroidism and Hypercalcemia. *Cureus.* 2019;11(5):e4590. doi: 10.7759/cureus.4590.
- 83) Bilezikian JP, Brandi ML, Eastell R, Silverberg SJ, Udelsman R, Marcocci C, et al. Guidelines for the management of asymptomatic primary hyperparathyroidism: summary statement from the Fourth International Workshop. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(10):3561-9. doi: 10.1210/jc.2014-1413.
- 84) Dandurand K, Ali DS, Khan AA. Primary Hyperparathyroidism: A Narrative Review of Diagnosis and Medical Management. *J Clin Med.* 2021;10(8):1604. doi: 10.3390/jcm10081604.
- 85) Paillard M, Gardin JP, Borensztein P, Prigent A. Determinants of parathormone secretion in primary hyperparathyroidism. *Horm Res.* 1989;32:89-92. doi: 10.1159/000181253.
- 86) Sørensen HA, Schwarz P, McNair P, Hyldstrup L, Transbøl I. Calcium clamp technique: suppression of serum intact PTH by induced hypercalcaemia in normal

- man and primary hyperparathyroidism. *Scand J Clin Lab Invest.* 1992;52:457-65. doi: 10.3109/00365519209090122.
- 87) Lips P, Netelenbos JC, van Doorn L, Hackeng WH, Lips CJ. Stimulation and suppression of intact parathyroid hormone (PTH1-84) in normal subjects and hyperparathyroid patients. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1991;35:35-40. doi: 10.1111/j.1365-2265.1991.tb03493.x.
- 88) Hagag P, Kummer E, Weiss M. Primary hyperparathyroidism: role of the preoperative oral calcium loading test in the differential diagnosis between adenoma and hyperplasia. *Calcif Tissue Int.* 2008;83:404-13. doi: 10.1007/s00223-008-9191-9.
- 89) Broadus AE, Deftos LJ, Bartter FC. Effects of the intravenous administration of calcium on nephrogenous cyclic AMP: use as a parathyroid suppression test. *J Clin Endocrinol Metab.* 1978;46:477-87. doi: 10.1210/jcem-46-3-477.
- 90) Malberti F, Farina M, Imbasciati E. The PTH-calcium curve and the set point of calcium in primary and secondary hyperparathyroidism. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 1999;14:2398-406. doi: 10.1093/ndt/14.10.2398.
- 91) Cetani F, Picone A, Cerrai P, Vignali E, Borsari S, Pardi E, et al. Parathyroid expression of calcium-sensing receptor protein and in vivo parathyroid hormone-Ca(2+) set-point in patients with primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(12):4789-94. doi: 10.1210/jcem.85.12.7028.
- 92) Parthamore JG, Deftos LJ. Calcitonin secretion in primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1979;49:223-6. doi: 10.1210/jcem-49-2-223.
- 93) Silva OL, Snider RH, Becker KL. Radioimmunoassay of calcitonin in human plasma. *Clin Chem.* 1974; 20: 337-9.

- 94) Coombes RC, Hillyard C, Greenberg PB, MacIntyre I. Plasma-immunoreactive-calcitonin in patients with non-thyroid tumours. *Lancet*. 1974;1(7866):1080-3. doi: 10.1016/s0140-6736(74)90557-1.
- 95) LiVolsi VA, Feind CR, LoGerfo P, Tashjian AH Jr. Demonstration by immunoperoxidase staining of hyperplasia of parafollicular cells in the thyroid gland in hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 1973;37:550-9. doi: 10.1210/jcem-37-4-550.
- 96) Deftos LJ, Bury AE, Habener JF, Singer FR, Potts JT. Immunoassay for human calcitonin. II. Clinical studies. *Metab. Clin. Exp*. 1971;20:1129-37.
- 97) Morita R, Fukunaga M, Yamamoto I, Mori T, Torizuki K. Radioimmunoassay for human calcitonin employing synthetic calcitonin M: its clinical application. *Endocrinol JPN*. 1975;22: 419-26.
- 98) Adachi I, Abe K, Tanaka M, Yamaguchi K, Miyakawa S. Plasma human calcitonin (hCT) levels in normal and pathologic conditions, and their responses to short calcium or tetragastrin infusion. *Endocrinol Jpn*. 1976;23:517-26.
- 99) Heynen G, Franchimont P. Human calcitonin radioimmunoassay in normal and pathological conditions. *Eur J Clin Invest*. 1974;4:213-22.
- 100) Parthemore JG, Deftos LJ, Bronzert D. The regulation of calcitonin in normal human plasma as assessed by immunoprecipitation and immunoextraction. *J Clin Invest*. 1975;56(4):835-41. doi: 10.1172/JCI108162.
- 101) Hillyard CJ, Cooke TJ, Coombes RC, Evans IM, Macintyre I. Normal plasma calcitonin: circadian variation and response to stimuli. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1977;6(4):291-8. doi: 10.1111/j.1365-2265.1977.tb02014.x.

- 102) Heath H 3rd, Sizemore GW. Plasma calcitonin in normal man. Differences between men and women. *J Clin Invest.* 1977;60(5):1135-40. doi: 10.1172/JCI108865.
- 103) Becker KL, Silva OL, Wisneski LA, Cyrus J, Snider RH, Moore CF, et al. Limited calcitonin reserve in hyperparathyroidism. *Am J Med Sci.* 1980;280:11-5. doi: 10.1097/00000441-198007000-00002.
- 104) Tiegs RD, Body JJ, Barta JM, Heath H 3rd. Plasma calcitonin in primary hyperparathyroidism: failure of C-cell response to sustained hypercalcemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986;63:785-8. doi: 10.1210/jcem-63-3-785.
- 105) Mazzuoli GF, D'Erasmus E, Scarda A, Mancini D, Minisola S, Alberti LM, et al. Calcitonin secretion and bone disease severity in hypercalcaemic hyperparathyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1981;15:81-6. doi: 10.1111/j.1365-2265.1981.tb02751.x.
- 106) Tabolli S, Valtorta C, Bigi F, Minisola S, Mazzuoli GF. Basal and stimulated calcitonin secretion in primary hyperparathyroidism before and after parathyroidectomy. *Horm Res.* 1986;23:142-6. doi: 10.1159/000180309.
- 107) Conte-Devolx B, Morlet-Barla N, Roux F, Sebag F, Henry JF, Niccoli P. Could primary hyperparathyroidism-related hypercalcemia induce hypercalcitoninemia? *Horm Res Paediatr.* 2010;73:372-5. doi: 10.1159/000308170.
- 108) Broulik PD, Hradec E, Pacovský V. Calcitonin activity of the thyroid gland in primary hyperparathyroidism. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1978;89:122-5. doi: 10.1530/acta.0.08901.22.
- 109) Baylin S, Bailey A, Hsu T, Foster G. Degradation of human calcitonin in human plasma. *Metab Clin Exp.* 1977;26:1345-54.

- 110) Kübler N, Krause U, Wagner PK, Beyer J, Rothmund M. The effect of high parathyroid hormone concentration on calcitonin in patients with primary hyperparathyroidism. *Exp Clin Endocrinol*. 1987;90:324-30. doi: 10.1055/s-0029-1210708.
- 111) Castellano E, Attanasio R, Latina A, Gennaro M, Boriani A, Borretta G. Increased serum calcitonin in sporadic primary hyperparathyroidism is an uncommon occurrence. *Endocr Pract*. 2019;25:1279-85. doi:10.4158/EP-2019-0246.
- 112) Bevilacqua M, Dominguez LJ, Righini V, Valdes V, Vago T, Leopaldi E, et al. Dissimilar PTH, gastrin, and calcitonin responses to oral calcium and peptones in hypocalciuric hypercalcemia, primary hyperparathyroidism, and normal subjects: a useful tool for differential diagnosis. *J Bone Miner Res*. 2006;21:406-12. doi: 10.1359/JBMR.051210.
- 113) Lambert PW, Heath H 3rd, Sizemore GW. Pre- and postoperative studies of plasma calcitonin in primary hyperparathyroidism. *J Clin Invest*. 1979;63:602-8.
- 114) Schwarz P, Sørensen HA, Mønsen G, McNair P, Transbøl I. Normal pattern of parathyroid response to blood calcium lowering in primary hyperparathyroidism: a citrate clamp study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1992;37(4):344-8. doi: 10.1111/j.1365-2265.1992.tb02336.x.
- 115) Ortolani S, Scotti A, Cherubini R. Rapid suppression of bone resorption and parathyroid hormone secretion by acute oral administration of calcium in healthy adult men. *J Endocrinol Invest*. 2003;26(4):353-8. doi: 10.1007/BF03345184.
- 116) Cailleux A, Vuillermet P, Basuyau JP, Ménard JF, Lefebvre H, Kuhn JM, et al. A step towards cinacalcet testing for the diagnosis of primary hyperparathyroidism: comparison with the standardized intravenous calcium

- loading. A pilot study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015;82(5):663-9. doi: 10.1111/cen.12729.
- 117) Børresen T, Jørgensen FS, Transbøl I, Madsen SN. Influence of calcium infusion on urinary cyclic AMP and phosphate in hyperparathyroidism. *Acta Med Scand*. 1981;210:15-9. doi: 10.1111/j.0954-6820.1981.tb09769.x.
 - 118) Mosekilde L, Andersen P. The calcium infusion test in primary hyperparathyroidism. *Acta Med Scand*. 1973;193:331-6. doi: 10.1111/j.0954-6820.1973.tb10586.x.
 - 119) Titon I, Cailleux-Bounacer A, Basuyau JP, Lefebvre H, Savouré A, Kuhn JM. Evaluation of a standardized short-time calcium suppression test in healthy subjects: interest for the diagnosis of primary hyperparathyroidism. *Eur J Endocrinol*. 2007;157(3):351-7. doi: 10.1530/EJE-07-0132.
 - 120) Zhao L, Zhang MJ, Zhao HY, Sun LH, Li JL, Tao B, et al. PTH inhibition rate is useful in the detection of early-stage primary hyperparathyroidism. *Clin Biochem*. 2011;44(10-11):844-8. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2011.03.142.
 - 121) Corbetta S, Mantovani G, Lania A, Borgato S, Vicentini L, Beretta E, et al. Calcium-sensing receptor expression and signalling in human parathyroid adenomas and primary hyperplasia. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000;52(3):339-48. doi: 10.1046/j.1365-2265.2000.00933.x.
 - 122) Zhu X, Shan C, Zhu Q, Song L, Zhou Y, Liu J, Zhang K. Clinical value of calcium load test in differential diagnosis of different types of hyperparathyroidism. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7(12):5445-52.
 - 123) Wang W, Lewin E, Olgaard K. Role of calcitonin in the rapid minute-to-minute regulation of plasma Ca^{2+} homeostasis in the rat. *Eur J Clin Invest*. 2002;32:674-81. doi: 10.1046/j.1365-2362.2002.01054.x.

- 124) Scherübl H, Raue F, Zopf G, Hoffmann J, Ziegler R. Reversible desensitization of calcitonin secretion by repetitive stimulation with calcium. *Mol Cell Endocrinol*. 1989;63:263-6. doi: 10.1016/0303-7207(89)90103-2.
- 125) Tørring O, Bucht E, Sjöberg HE. Decreased plasma calcitonin response to a calcium clamp in primary hyperparathyroidism. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1985;108:372-6. doi: 10.1530/acta.0.1080372.
- 126) Torres A, Rodriguez M, Felsenfeld A, Martin-Malo A, Llach F. Sigmoidal relationship between calcitonin and calcium: studies in normal, parathyroidectomized, and azotemic rats. *Kidney Int*. 1991;40:700-4. doi: 10.1038/ki.1991.263.
- 127) Lotito A, Teramoto M, Cheung M, Becker K, Sukumar D. Serum Parathyroid Hormone Responses to Vitamin D Supplementation in Overweight/Obese Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Nutrients*. 2017;9(3):241. doi: 10.3390/nu9030241.
- 128) Brown AJ, Zhong M, Finch J, Ritter C, McCracken R, Morrissey J, et al. Rat calcium-sensing receptor is regulated by vitamin D but not by calcium. *Am J Physiol*. 1996;270:F454-60. doi: 10.1152/ajprenal.1996.270.3.F454.

BIOGRAFIJA

Emir Muzurović je rođen 26.10.1981. godine u Bijelom Polju, gdje je završio osnovnu školu i gimnaziju, dobitnik je diplome Luča.

Medicinski fakultet je upisao u Podgorici školske 2000/2001 godine i diplomirao je u redovnom roku školske 2006/2007 godine sa prosječnom ocjenom 9.53. U toku studija dva puta je nagrađivan kao jedan od najboljih studenata Medicinskog fakulteta.

Pripravnički staž je obavio u Domu zdravlja Podgorica, a nakon toga je 2009. godine započeo radni angažman na Internoj klinici Kliničkog Centra Crne Gore. Specijalizaciju iz oblasti Interne medicine je započeo u oktobru 2009. godine. U oktobru mjesecu 2013. godine je položio završni specijalistički ispit na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, odličnom ocjenom. Nakon toga je upisao subspecijalizaciju iz oblasti Endokrinologije, 2015. godine, položio je završni ispit uže specijalizacije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu u maju 2017. godine, ocjenom 10.

Svoja usavršavanja je, osim navedenog, sprovodio u prestižnim medicinskim centrima, Presbyterian Hospital/Weill Cornell New York City/SAD, Akademiska Sjukhuset Upsala/Švedska, Cochin Hospital Paris/France i KBC Rebro Zagreb/Hrvatska.

Od 2017. godine angažovan je kao saradnik u nastavi na Medicinskom fakultetu u Podgorici na Katedri Interne medicine. Na doktorskim studijama odbranio je polazna istraživanja u avgustu 2013. godine pod nazivom: "Metabolički faktori rizika za razvoj kardiovaskularnih komplikacija kod pacijenata na hemodijalizi".

Do sada je učestvovao u dva međunarodna naučno-istraživačka projekta i zvaničnim kolaboracijama sa naučnicima sa eminentnih svjetskih Univerziteta i bolnica (Harvard Medical School, Cambridge University, University College of London, Erasmus Center Rotterdam, Univerzitetski Klinički centar Ljubljana, Klinički centar Srbije Beograd i Kliničko bolnički centar Rebro Zagreb), iz kojih su proistekle publikacije u eminentnim svjetskim časopisima indeksiranim međunarodnim bazama, do sada je objavio 24 rada u SCI/SCIE bazama, od čega 20 kao prvi autor i 4 kao koautor. Recenzent je u više eminentnih časopisa

indeksiranih u međunarodnim bazama. Član je Uređivačkog odbora SCI/SCIE časopisa *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics* (USA).

Član je Evropskog udruženja endokriologa (ESE), Evropskog društva za istraživanje dijabetesa (EASD), kao i Evropske mreže za istraživanje adrenalnih tumora (ENSAT).

Osim maternjeg jezika aktivno se služi engleskim jezikom.

Oženjen, otac 3 djece.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a: dr Emir Muzurović

Broj indeksa/upisa:

Izjavljujem

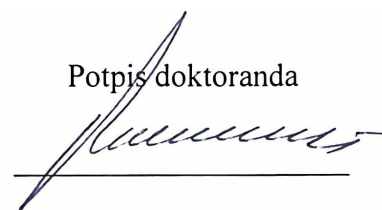
da je doktorska disertacija pod naslovom:

Odgovor paratiroidnog hormona i kalcitonina nakon kalcijumske infuzije kod pacijenata sa primarnim hiperparatiroidizmom prije i poslije paratiroidektomije

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada.
- da predložena disertacija ni u cjelini ni u djelovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih ustanova visokog obrazovanja.
- da su rezultati korektno navedeni. i
- da nijesam povrijedio/la autorska i druga prava intelektualne svojine koja pripadaju trećim licima.

U 30.05.2023. Podgorica

Potpis doktoranda



Prilog 2.

Izjava o istovjetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: dr Emir Muzurović

Broj indexa upisa:

Studijski program: Medicina

Naslov rada: Odgovor paratiroidnog hormona i kalcitonina nakon kalcijumske infuzije kod pacijenata sa primarnim hiperparatiroidizmom prije i poslije paratiroidektomije

Mentor: Prof. dr Snežana Vujošević

Komentor: Prof. dr Milan Petakov

Potpisani a: _____

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovjetna elektronskoj verziji koju sam predao a za objavljivanje u Digitalni arhiv Univerziteta Crne Gore.

Istovremeno izjavljujem da dozvoljavam objavljivanje mojih ličnih podataka u vezi sa dobijanjem akademskog naziva doktora nauka, odnosno zvanja doktora umjetnosti kao što su ime i prezime, godina i mjesta rođenja, naziv disertacije i datum odbrane rada.

U Podgorici, 30.05.2023.

Potpis doktoranda



IZJAVA O KORIŠĆENJU

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku da u Digitalni arhiv Univerziteta Crne Gore pohrani moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Odgovor paratiroidnog hormona i kalcitonina nakon kalcijumske infuzije kod pacijenata sa primarnim hiperparatiroidizmom prije i poslije paratiroidektomije

koja je moje autorsko djelo.

Disertaciju sa svim prilogima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni arhiv Univerziteta Crne Gore mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative commons) za koju sam se odlučio/la

1. Autorstvo
2. Autorstvo – nekomercijalno
- ☒ 3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – dijeliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – dijeliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jedno od šest ponuđenih licenci, kratak opis licence dat je na poledini lista).

U Podgorici, 30.05.2023.

Potpis doktoranda

