

Aumentata proliferazione dei precursori eritroidi indotta *in vitro* ed *ex vivo* dal calcitriolo in corso di uremia cronica. Effetto sinergico con rHuEPO

F. Aucella¹, G. Gatta¹, M. Vigilante¹, R.P. Scalzulli², S. Mantuano², M. Carotenuto²(†), C. Stallone¹

Divisioni di Nefrologia e Dialisi¹ e di Ematologia², Ospedale "Casa Sollievo della Sofferenza" - IRCCS, San Giovanni Rotondo (FG)

Riassunto

Premessa. Il calcitriolo (C) migliora l'anemia dell'IRC, effetto legato al controllo dell'iperparatiroidismo, ma che potrebbe sottendere un'azione diretta sull'emopoiesi.

Materiali e Metodi. Per studiare tale ipotesi abbiamo arruolato 33 soggetti con IRC, 24 in emodialisi periodica e 9 in fase conservativa (Cl Cr 22-48 ml/min), tutti esenti da altra patologia concomitante. Nessuno era in trattamento con C. Otto soggetti sani fungevano da controllo. L'età media era di 54±28 anni e la durata dell'IRC era di 84±36 mesi. Tutti i soggetti erano esenti da altre patologie croniche infiammatorie o ematologiche e non mostravano accumulo di Al valutato tramite test al DFO. *Studio in vitro*- Si eseguiva prelievo da sangue periferico e, dopo centrifugazione con Ficoll Hypaque, si isolavano i mononucleati della frazione a bassa densità (PBMNC). Questi erano incubati per 14 giorni in 4 differenti condizioni: **a**, con 3U/ml di rHuEPO; **b**, con 3 U/ml di rHuEPO e 30 pg di C (Abbott); **c**, con 3 U/ml di rHuEPO e 300 pg di C; infine **d**, con 30 U/ml di rHuEPO e 300 pg di C. *Studio ex vivo*-10 emodializzati, dopo lo studio basale, erano trattati con C (Calcijex) 1mg x 3 /settimana. Le BFU-E e i principali parametri ematologici erano valutati dopo 1, 2 e 4 mesi di terapia.

Risultati. *In vitro*- In **b**, la proliferazione delle BFU-E era maggiore che in **a** (41±23 vs 27±15, p<0.02); in **c** e **d** si ottenevano proliferazioni ancora maggiori (61±31 e 78±42 rispettivamente, p<0.01 vs **a**). Non vi era differenza tra i soggetti in dialisi e in fase conservativa. Nei controlli solo **d** mostrava proliferazioni maggiori del basale (58±20 vs 31±12, p<0.02). *Ex vivo*-Tutte le colture mostravano un progressivo e significativo aumento della proliferazione, senza una fase di plateau. In **a**: 17±8, 22±13, 30.9±14.9, 41.4±20; in **b**: 27.3±15, 35.6±20, 45.5±21, 57±26; in **c**: 48.2±20.6, 63.7±32, 75.7±37, 83±40; in **d**: 72±24, 91±42, 106±42, 110±42.3 (sempre p<0.001). Hb e Hct avevano lievi incrementi, non significativi ma costanti (Hct 33% vs 36%; Hb 10.2 vs 10.7 g/dl). Il calo del iPTH era indipendente dalle BFU-E.

Conclusioni. Negli uremici C esercita un diretto stimolo sui precursori eritroidi sia *in vitro* che *in vivo*, sinergico con rHuEPO e indipendente dall'attività paratiroidea. Esso si candida quale terapia adiuvante nell'uso della rHuEPO.

PAROLE CHIAVE: Anemia, Calcitriolo, Uremia cronica, Precursori eritroidi, Eritropoietina

Increased *in vitro* and *ex vivo* proliferation of erythroid precursors induced by calcitriol in chronic renal failure. Synergistic effect with rHuEPO

Background. Calcitriol (C) improves anemia in chronic renal failure. This improvement may be related to the suppression of iPTH release, but also to a direct effect on erythropoiesis.

Materials and Methods. In order to verify this hypothesis, 33 patients with chronic renal failure were enrolled: 24 were undergoing hemodialysis, 9 managed conservatively. All patients were free from other chronic or hematological disease, had a negative DFO test and aluminum levels below 20 mcg/l. iPTH range was 250-480 pg/l. None had yet been treated with C. *In vitro study*- Samples were drawn for a basal erythroid precursors (Burst Forming Unit-Erythroid BFU-E)

study. After mononuclear cells were isolated by centrifugation with Ficoll-Hypaque, they were incubated for 15 days with rHuEPO 3U/ml (A), rHuEPO 3U/l + C 30 pg (B), rHuEPO 3U/ml + C 300 pg (C), rHuEPO 30 U/ml + C 300 pg (D) was performed. Ex vivo study- After the basal evaluation, 10 pts on dialysis were treated with C (Calcijex-Abbott) 1 µg three times a week. BFU-E studies were performed after 1,2 and 4 months.

Results. In vitro, culture B showed an increased BFU-E proliferation vs A (41 ± 23 vs 27 ± 15 , $p < 0.02$); in C and D cultures proliferation was 61 ± 31 and 78 ± 42 respectively, $p < 0.01$ vs A. There was no difference among pts with renal failure and pts treated conservatively. During the in vivo study all cultures showed a progressive proliferation increase, without a plateau level (basal, after 1, 2, 4 months respectively): in A: 17 ± 8 , 22 ± 13 , 30.9 ± 14.9 , 41.4 ± 20 ; in B: 27.3 ± 15 , 35.6 ± 20 , 45.5 ± 21 , 57 ± 26 ; in C: 48.2 ± 20.6 , 63.7 ± 32 , 75.7 ± 37 , 83 ± 40 ; in D: 72 ± 24 , 91 ± 42 , 106 ± 42 , 110 ± 42.3 (always $p < 0.001$). The hematocrit and hemoglobin increase was constant but not significant. The iPTH decrease was not related to BFU-E proliferation.

Conclusions. In chronic uremia C has a direct effect on erythroid precursor proliferation, both in vitro and ex vivo, with a synergistic effect with rHuEPO. This effect is not related to iPTH suppression. C may be a useful adjuvant therapy for rHuEPO treatment. (G Ital Nefrolog 2002; 19: 137-42)

KEY WORDS: Anemia, Calcitriol, Chronic uremia, Erythroid precursor, Erythropoietin