

# I calciomimetici

P. Messa, G. Como, B. Brezzi

Divisione di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Ospedale Maggiore-Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena, Fondazione IRCCS, Milano

## Calcimimetics

*Current therapy for secondary hyperparathyroidism in uremia has relatively poor success in achieving the target levels of parathyroid hormone (PTH), calcium and phosphate established by the NKF-K/DOQI guidelines. The discovery and characterization of a new membrane receptor able to sense minimal Ca changes (CaSR) started intensive research in the attempt to characterize better its functions and its finding compounds, which could modulate its activity. CaSR is expressed not only in the cells that secrete calcium-regulating hormones (parathyroid cells and thyroid C-cells) and in cells involved in calcium transport mechanisms (ie intestinal cells, bone-forming osteoblasts, and cells of different nephron segments), but also in other tissues with, as yet, a not completely defined role. CaSR stimulation by the agonists is followed by the activation of a great number of G-proteins mediated intracellular signalling pathways (PLC, PLA, PLD, PKC, PKA, etc). At the level of parathyroid cells, the main effect is the increase in IP3, followed by a mobilization of intracellular Ca stores, which inhibit PTH secretion in a few seconds or minutes.*

*Long-term CaSR stimulation is also able to induce a reduction in both PTH synthesis and parathyroid cell proliferation. More than 100 mutations of the gene coding for CaSR have been described. Some of these mutations are matched by a gain or reduction/loss of function. Notwithstanding, CaSR is widely represented on different tissue cells, the main clinical manifestations of the above genetic changes mainly involve PTH and calcium metabolism. A great number of inorganic and organic cations can interact with the Ca-sensitive N-terminus domain of CaSR, mimicking Ca effects (type I calcimimetics), but these substances have substantial limitations for use in clinical practice. A second class of compounds was produced (NPS R-467, S-467, R-568, S-568, AMG 073), for use in the clinical setting, type II calcimimetics. These compounds, after having interacted with the membrane-spanning domains of the CaSR, induce conformational changes in the N-terminus domain, increasing its affinity for Ca. The preclinical experiences with calcimimetics demonstrated that they were effective in reducing circulating PTH, preventing the progression of secondary hyperparathyroidism, suppressing parathyroid cell proliferation, and reversing osteitis fibrosa at least in animal models. Clinical studies were performed mainly using AMG 073, due to its greater bioavailability and more consistent pharmacokinetic profile. Clinical studies performed in primary hyperparathyroidism proved AMG 073 to be effective in reducing both PTH and Ca serum levels, with a good safety profile. Further studies, mainly focused on the efficacy of AMG 073 in the control of secondary hyperparathyroidism in uremia, confirmed the efficacy of this compound in reducing PTH levels >30% in about 50% of patients. Furthermore, the fall in PTH was matched by a reduction in both calcium and phosphate serum levels of about 5-7%, with a significant reduction in calcium x phosphate product (about 15%).*

*The latter aspect represents a unique pharmacological profile, as compared to all the other available therapeutic means to control secondary hyperparathyroidism in uremia. In addition to their effectiveness, calcimimetics present a relatively safe profile, the only adverse events referred to consist of transient and easily remediable hypocalcemic episodes and some gastrointestinal discomfort symptoms. However, although calcimimetics represent a real advancement in the field of treating secondary hyperparathyroidism in uremic patients, their use should be matched by the awareness that previously the success of a high number of new drugs proposed have been flawed by negative consequences in the long term. Therefore, strict clinical control is necessary in the next few years when the use of these new compounds will widen. (G Ital Nefrol 2006; 23: 12-21)*

**KEY WORDS:** CaSR, Hyperparathyroidism, Uremia, Calcimimetics

**PAROLE CHIAVE:** CaSR, Iperparatiroidismo, Uremia, Calciomimetici

## Commento Editoriale

*Questa rassegna ha il pregio di andare nei dettagli del meccanismo di azione e dell'indicazione clinica dei calcio-mimetici. Inoltre è anche un invito a una riflessione cauta su eventuali effetti ancora non noti e di interferenza con altri farmaci dei calciomimetici.*

## Introduzione

L'iperparatiroidismo secondario (IPS) caratterizza sin dalle prime fasi il decorso dell'insufficienza renale cronica e trova i suoi momenti patogenetici nelle alterazioni metaboliche che coinvolgono la biodisponibilità della vitamina D, il bilancio tendenzialmente negativo del calcio, la ritenzione di fosforo e una ridotta risposta del tessuto osseo all'effetto calcemizzante del PTH (1).

L'aumento dei livelli di PTH nei pazienti uremici gioca un ruolo preminente non solo nella patogenesi dell'osteopatia uremica, ma contribuisce in modo rilevante allo sviluppo della patologia cardio-vascolare e alla mortalità ad essa correlata. Questi ultimi effetti patologici si realizzano attraverso meccanismi sia diretti (alterazione della struttura del muscolo cardiaco e della struttura vascolare) che indiretti (alterazione del metabolismo glico-lipidico, ipertensione) (2-7).

La terapia tradizionale dell'IPS dell'uremia si fonda sull'uso combinato dei metabolici attivi della vitamina D e sulla riduzione dell'assorbimento intestinale del fosforo con l'uso di sali di calcio e/o di chelanti non contenenti calcio (8-10). Sebbene questa terapia sia risultata abbastanza efficace nel controllo dei livelli del PTH, è apparso sempre più evidente negli ultimi anni che tale risultato è stato ottenuto alle spese di un impatto negativo sull'apparato cardio-vascolare. Questo a causa di uno scarso controllo dell'iperfosforemia e di una più spiccata tendenza ad un bilancio positivo del calcio (11-13). Sulla base di tali presupposti le linee guida prodotte dalla *National Kidney Foundation* hanno posto una particolare enfasi sul controllo non solo dei livelli di PTH (valori raccomandati tra 150 e 300 pg/mL di PTH intatto), ma anche di quelli del calcio e del fosforo (valori raccomandati tra 8.4 e 9.5 mg/dL per il Ca corretto e tra 3.5 e 5.5mg/dL per il fosforo) (14). Di fatto, il raggiungimento di questi target appare oggi abbastanza problematico, con la terapia sino ad oggi disponibile (15).

Nell'ultimo decennio l'avanzamento della scienza di base ha dato i suoi frutti anche nel campo dello studio dei meccanismi che controllano la secrezione del PTH e nella produzione di nuovi composti in grado di interagire con tali meccanismi, aprendo nuove strade al trattamento dell'IPS.

## Il recettore sensibile al Calcio (CaSR)

Da oltre 120 anni esiste la consapevolezza che il Calcio

sia in grado di regolare numerose funzioni cellulari (16). L'idea però che la cellula fosse dotata di un recettore in grado di "sentire" e rispondere alle variazioni della concentrazione extracellulare del Ca ebbe origine più recentemente dalle osservazioni del gruppo di EM Brown, che mise in evidenza come, in termini di tempo estremamente brevi (secondi o minuti), variazioni della concentrazione del Ca extracellulare potessero indurre variazioni della secrezione del PTH nelle cellule paratiroidi (17, 18).

Divenne poi ben presto evidente che gli effetti del calcio potevano essere simulati da altri cationi non permeabili alla membrana cellulare, introducendo l'idea che l'ipotizzato "sensore" dovesse essere presente a livello della stessa membrana cellulare.

Inoltre, gli effetti intracellulari del calcio erano tipici dei segnali che seguono all'attivazione dei recettori associati alle proteine-G (19).

Infine, nel 1993 Brown caratterizzò e clonò una proteina di 1078 aminoacidi che presentava tutte queste caratteristiche e che lo fecero identificare nel sensore del Calcio (CaSR) il cui gene, nell'uomo, è posizionato sul cromosoma 3q21.1 (20).

Questa proteina appartiene alla superfamiglia dei recettori associati alle proteine G, che comprende 5 sottogruppi (i recettori per l'acido glutammico, i recettori per il GABA, i recettori per ferormoni, i recettori gustativi e il CaSR).

Il CaSR è strutturato in 3 domini principali. Il più voluminoso dei tre è rappresentato da quello amino-terminale, di 612 aminoacidi, dove è presente il sito coinvolto nell'interazione con il calcio e con altri agonisti. Il secondo dominio intramembranoso, costituito da 250 aminoacidi, è formato da 7 distinte porzioni intramembranose, connesse da 6 anse, 3 extra e 3 intracellulari, ed è implicato in numerose funzioni: trasporto del recettore sulla membrana, dimerizzazione, traduzione del segnale e, come si dirà in seguito, interazione con i modulatori allosterici (calciomimetici e calciolitici). Il terzo dominio è quello idrofobico C-terminale, composto da una sequenza di 215 aminoacidi, che contiene numerosi siti di fosforilazione, coinvolti nei processi di trasmissione dei vari meccanismi di segnale intracellulare (21, 22).

Nonostante che il nome di sensore del calcio sembrerebbe indicare una specificità di tale recettore nel rispondere a variazioni esclusivamente delle concentrazioni di tale catione, il numero dei potenziali agonisti recettoriali è molto elevato (Tab. I) (23).

La caratteristica che accomuna tutti gli agonisti del CaSR è quella di appartenere alla categoria dei cationi: da ciò si è dedotto che il sito recettoriale deputato ad interagire con gli agonisti è carico negativamente. L'efficacia nel determinare l'attivazione del recettore è però estremamente variabile, dipendendo sostanzialmente dall'ingombro sterico oltre che dal numero di cariche. È poi stato dimostrato che numerosi fattori chimico-fisici possono influenzare sostanzialmente l'interazione tra agonista e recettore. Tra questi vale la pena

TABELLA I - AGONISTI DEL CaSR

---

- **Cationi inorganici**
  - Agonisti forti → *range* submicromolare-micromolare
    - Gd<sup>3+</sup> La<sup>3+</sup>
  - Agonisti di media forza → *range* submillimolare-millimolare
    - Ca<sup>2+</sup> Ba<sup>2+</sup> Gd<sup>2+</sup> Sr<sup>2+</sup> Cd<sup>2+</sup> Pb<sup>2+</sup>
  - Agonisti deboli → *range* millimolare elevato
    - Mg<sup>2+</sup> Fe<sup>3+</sup> Ga<sup>2+</sup> Na<sup>+</sup>
- **Cationi organici**
  - Poliamine
    - Sperminea>spermidina>>putrescina
- **Poli-peptidi basici**
  - Poli-L-arginina
  - β-amiloide
- **Aminoacidi**
  - Aromatici>neutri>acidi>basici>ramificati
- **Antibiotici aminoglicosidici**
  - Neomicina-B, neomicina-C
  - Gentamicina, tobramicina
  - Kanamicina

---

TABELLA II - SISTEMI CELLULARI CHE ESPRIMONO IL CaSR

---

- **Cellule coinvolte nella secrezione degli ormoni calciotropi**
  - Cellule paratiroidi
  - Cellule C della tiroide
- **Cellule coinvolte in sistemi di trasporto transcellulare del calcio**
  - Cellule epiteliali intestinali
  - Cellule tubulari renali
  - Osteoblasti e osteoclasti
- **Altri tessuti**
  - SNC
  - Polmoni
  - Cardiomiociti
  - Placenta
  - Mammella
  - Cellule epidermiche
  - Cellule endoteliali
  - Adipociti
  - Ecc...

---

di ricordare che l'aumento della forza ionica, in gran parte dipendente dalla concentrazione del Sodio e l'acidosi riducono l'efficacia di attivazione da parte degli agonisti.

Il CaSR è espresso a livello di numerosi tipi di cellule. Un elenco dei principali sistemi cellulari che esprimono il CaSR è riportato nella Tabella II. Ad essi appartengono non solo sistemi cellulari deputati alla secrezione di ormoni Calcio-regolatori o coinvolti nel trasporto del calcio, ma anche tessuti nei quali il ruolo del CaSR non è ancora del tutto definito (21, 24).

L'interazione di un agonista con la regione N-terminale extracellulare, determina modificazioni steriche della molecola a livello delle regioni intracitoplasmatiche (anse IC-1 e IC-3 e regione C-terminale) che comportano eventi fosforilativi attivanti differenti tipi di proteine-G (Gi, Gq, G<sub>12/13</sub>), con conseguente inibizione dell'adenil-ciclastasi, stimolazione della fosfolipasi-C,-A e -D, delle chinasi dell'inositol 3-P e 4-P, ecc. Questi eventi biochimici esitano nell'attivazione di numerosi segnali intracellulari (la riduzione dell'AMP ciclico, l'aumento del DAG, del IP<sub>3</sub>/Ca<sup>++</sup>, di numerose chinasi come la PKC, JNK, ERK, ecc.) a cui seguono eventi biologici differenziati nelle varie cellule dei tessuti dove è espresso il CaSR. Tra questi eventi biologici i più documentati sono quelli relativi alle modificazioni secretive nelle cellule produttrici degli ormoni calciotropi (PTH, calcitonina), alle variazioni delle funzioni di trasporto nelle cellule che regolano il trasferimento del calcio attraverso strutture cellulari, e alle modificazioni della cinetica proliferativi in numerosi sistemi cellulari (25).

Come si è già detto, il CaSR è espresso a livello di nume-

rosi tessuti, anche se il significato fisiopatologico non è al momento definitivamente chiarito per ognuno di essi.

Tra i sistemi cellulari meglio studiati è quello delle cellule paratiroidi dove gli effetti della stimolazione del CaSR sono stati sicuramente meglio definiti.

Il principale effetto è rappresentato dall'aumento del calcio intracellulare, conseguente alla attivazione della PLC e quindi alla formazione del IP<sub>3</sub>, che produce in pochi secondi o minuti una riduzione della secrezione del PTH preformato, contenuto nei granuli secretivi. Una stimolazione prolungata nel tempo del CaSR è però in grado di indurre una ridotta trascrizione dell'm-RNA del PTH (ore-giorni) e nell'arco di giorni o settimane una riduzione degli eventi proliferativi cellulari (26). Buone informazioni sono presenti anche per quanto riguarda gli effetti dell'attivazione del CaSR a livello di sistemi cellulari coinvolti nel trasporto del calcio.

Nel rene, dove il recettore è espresso in quasi tutti i distretti nefronici (glomerulo, versante lumenale del tubulo prossimale, versante basolaterale del TD, AH, DC), l'attivazione del CaSR contribuisce ad influenzare non solo il trasporto del Ca, inibendone il trasporto dal lume all'interstizio, ma anche quello del Na e dell'acqua, riducendoli entrambi (27).

Nel tessuto osseo è noto che gli osteoblasti e gli osteoclasti sono in grado di modificare il flusso del calcio in ingresso e uscita dall'osso in risposta all'effetto degli ormoni calciotropi. Questo processo richiede però tempi relativamente lunghi (settimane o mesi). È ora noto che le cellule ossee sono in grado di rispondere direttamente alle variazioni dei

livelli calcemici, determinando modificazioni del flusso del calcio anche nel breve tempo (ore). È ancora oggetto di ricerca se tale capacità di risposta diretta alle variazioni di concentrazione del calcio siano legate all'espressione sulla membrana delle cellule ossee del CaSR e/o di qualche altro recettore per il calcio, probabilmente anch'esso appartenente alla famiglia dei GPCRs (28, 29).

Infine, a livello di numerosi distretti del tubo gastro-enterico le cellule esprimono il CaSR sulla loro membrana (in alcune sul versante baso-laterale in altre su quello luminale). Gli effetti più documentati della stimolazione del CaSR a livello gastro-enterico sono quelli legati ad un aumento della secrezione gastrica, secondaria sia ad una stimolazione diretta della pompa protonica sia ad una indiretta stimolazione attraverso un'attivazione dei recettori H<sub>2</sub> istaminergici, secondaria ad un'aumentata secrezione di gastrina (30).

Molto meno definito è per il momento il ruolo del CaSR presente a livello di numerosi altri sistemi cellulari (sistema nervoso centrale, cardiomiociti, epidermide, mammella, ecc).

Nell'uomo sono note oltre 100 mutazioni nel gene che codifica per il CaSR. Alcune di queste mutazioni sono associate a guadagno, altre a perdita di funzione. È interessante notare che in tutte le patologie espresse in relazioni a tali mutazioni le caratteristiche cliniche riguardano quasi esclusivamente modificazioni metaboliche del metabolismo calcio-fosforo e dei livelli del PTH, nonostante la già citata diffusione del CaSR in numerosi sistemi cellulari (31).

## Test di verifica

### 1) Quale di queste affermazioni è corretta:

- Il CaSR è espresso solo a livello delle cellule che secernono ormoni calciotropi
- Il CaSR è espresso solo a livello di cellule interessate al trasporto del calcio
- Il CaSR è presente solo nei primati
- Il CaSR è un recettore intracellulare
- Il CaSR è espresso a livello di numerosi tessuti, spesso con effetti non ancora definiti

### 2) Il CaSR:

- Interagisce con numerosi cationi a livello del terminale extracellulare
- Interagisce con numerosi anioni a livello del terminale extracellulare
- Interagisce con numerosi cationi a livello dei domini intramembranososi
- Interagisce con i modulatori allosterici nel dominio extracellulare
- Interagisce con numerosi cationi a livello del dominio intramembranoso

### 3) Il CaSR quando attivato induce:

- Una riduzione dei livelli di calcio intracellulare
- Un aumento dei livelli di calcio intracellulare

- Nessuna variazione del calcio intracellulare
- Un aumento dell'cAMP
- Una inibizione delle chinasi dell'IP<sub>3</sub>.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet [www.sin-italy.org/gin](http://www.sin-italy.org/gin) e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

## Ruolo delle alterazioni del CaSR nella patogenesi dell'iperparatiroidismo secondario dell'uremia

Il calcio rimane quindi il maggior fattore di controllo della secrezione del PTH, proprio per mezzo dell'interazione con il suo recettore espresso dalle cellule paratiroidi. Tale interazione è responsabile della nota curva sigmoidea che caratterizza la relazione tra le variazioni istantanee del calcio e quelle secretive del PTH. È stato pertanto logico ipotizzare che uno dei meccanismi coinvolti nello sviluppo dell'iperparatiroidismo secondario sin dalle prime fasi dell'IRC potesse essere rappresentato da una perdita di tale meccanismo omeostatico. Infatti, Brown e il suo gruppo dimostrarono che, almeno *in vitro*, le ghiandole paratiroidi estratte dall'animale o da pazienti uremici, perdevano il normale controllo secretivo del PTH da parte del calcio (32, 33). Tali risultati potevano trovare una spiegazione sulla base del riscontro di una ridotta espressione del CaSR sulle cellule paratiroidi di animali uremici (34). Per testare se il controllo della secrezione calcio-mediata del PTH fosse alterato anche *in vivo* e verificare nel caso in quale fase dello sviluppo dell'IRC iniziasse, studiammo oltre un decennio fa le variazioni della curva di risposta Ca/PTH in pazienti nefropatici con differenti livelli di funzione renale (35). Di fatto, i risultati ottenuti dimostrarono che, sino a livelli di funzione renale prossimi alla terapia sostitutiva, non vi erano alterazioni consistenti della cinetica secretiva del PTH, facendoci concludere che, quantomeno nelle fasi iniziali dello sviluppo dell'IPS nel corso dell'IRC, le ghiandole paratiroidi rispondono in modo regolare alle variazioni del calcio. Se nelle fasi iniziali non vi è evidenza di una modificazione del controllo calcio-mediato della secrezione del PTH, nelle fasi più avanzate, quando l'iperplasia paratiroidi acquisisce prevalentemente la forma nodulare ed è spesso associata ad una tendenza all'ipercalcemia, tale controllo viene frequentemente perso, verosimilmente a causa di una ridotta espressione del CaSR sulla membrana delle cellule paratiroidi iperplastiche (36-38).

## Composti in grado di modulare l'attività del CaSR

La scoperta e la sequenziazione genica del CaSR diede inizio ad un'intensa stagione di ricerca nel tentativo di trovare dei composti che potessero agire modificando l'attività del CaSR. Come già ricordato, un gran numero di cationi inorganici e organici (Tab. I) sono in grado di interagire con il sito N-terminale del dominio extracellulare del CaSR, mimando l'azione del calcio sull'inibizione della secrezione del PTH, meritandosi la definizione reale di calciomimetici di tipo I (39). Questa classe di composti non hanno trovato un campo di applicazione pratica nell'uso clinico. Infatti, quelli dotati di elevata affinità per il CaSR sono anche gravati da una notevole tossicità intrinseca; gli altri a più bassa affinità dovrebbero essere utilizzati in dosi così elevate da non essere maneggevoli, potendo indurre effetti metabolici indesiderati.

Successivamente, la ricerca propose una serie di composti in grado di interagire con il CaSR aumentandone l'attività (NPS R-467, S-467, R-568, S-568, AMG 073). In effetti, il termine di calciomimetici di tipo II, utilizzato per definire questi composti è inappropriata. Infatti, queste sostanze non mimano l'azione del calcio, ma agiscono come attivatori allosterici del CaSR. In altre parole, questi composti, interagendo con alcuni siti appartenenti al dominio intramembranoso (verosimilmente il 6° e 7° segmento), inducono delle modificazioni della conformazione sterica del dominio N-terminale, che aumenta l'affinità per il calcio (40). Il primo tra questi composti che fu oggetto di sperimentazione fu l'NPS R-568 (41, 42).

Sebbene efficace nel ridurre i livelli di PTH, la maneggevolezza clinica dell'NPS R-568 si dimostrò molto scarsa sia per la sua bassa biodisponibilità che per l'interferenza con il metabolismo di numerosi altri farmaci che ne condizionavano la via metabolica (CYP 450 2D6).

L'AMG 073, un composto prodotto successivamente, è stato in grado di superare i limiti di bassa maneggevolezza clinica dell'NPS R-568, entrando nell'uso inizialmente sperimentale e infine clinico, come sarà detto nei prossimi paragrafi.

Per completezza, è necessario menzionare che esiste una terza classe di calciomimetici (di tipo III). Questo terzo gruppo di sostanze, interagendo ancora una volta con la porzione intramembranosa del CaSR, induce modificazioni allosteriche della regione extracellulare che, in modo opposto agli attivatori allosterici, inducono una riduzione dell'affinità del CaSR per il calcio, determinando un effetto stimolatore sulla secrezione del PTH (39, 40).

## Note di farmacocinetica

Le notizie al momento presenti sulle caratteristiche farmacocinetiche di AMG 073 sono relativamente limitate e prevalentemente prodotte nella fase di studio preclinica e in possesso dell'azienda proprietaria del prodotto.

È comunque noto che AMG 073 è un R-enantiomero, in forma di sale HCl, dal peso molare di 393.9 g, moderatamente solubile in acqua e prevalentemente solubile in soluzione alcolica.

Dopo somministrazione orale, la biodisponibilità del farmaco è di oltre il 74% e si distribuisce rapidamente e omogeneamente nella maggior parte dei tessuti. Il farmaco, quasi totalmente legato alle proteine circolanti (oltre il 95% è in forma legata), viene sottoposto sia a metabolismo ossidativo che a coniugazione con acido glucuronico e quindi escreto sia per via biliare (20-40%) che urinaria (circa 50%). Nell'uomo, la *clearance* microsomiale di farmaco è associata all'attività del CYP1A2 e CYP3A4, ma non a quella del CYP2D6 (43).

Sono state inoltre sperimentate dosi orali crescenti da 25 a 300 mg, valutando i principali parametri farmacocinetici (44). I risultati hanno dimostrato che: 1) vi è una buona proporzionalità tra la dose e la  $C_{max}$  e dell' $AUC_{0-24}$  sino a dosaggi di 200 mg/die, superati i quali non vi è guadagno di esposizione farmacologica; 2) vi è un'ampia variabilità interindividuale dei parametri farmacocinetici; 3) vi è un'ottima relazione tra livelli di  $C_{max}$  ed effetto soppressivo sul PTH, con un livello di efficacia semi-massimale per concentrazioni di farmaco intorno a 6 ng/mL e valori di effetto massimale a circa 20 ng/mL.

Dai pochi dati presenti sull'argomento non sembrerebbe esserci un'interferenza di rilievo clinico dei valori della funzione renale né della dialisi (extracorporea o peritoneale) sui parametri farmacocinetici e farmacodinamici (45).

## Test di verifica

### 1) I calciomimetici di tipo II:

- Competono con il calcio per il legame con il terminale extracellulare del CaSR
- Simulano gli stessi effetti dell'ipocalcemia
- Modificano la sensibilità del terminale extracellulare agli agonisti cationici
- Modificano la trasmissione del segnale interagendo con il terminale carbossilico intracitoplasmatico
- Interagiscono con il calcio extracellulare complessandolo.

### 2) L'azione del calciomimetico:

- Viene ridotta dall'ipercalcemia
- Viene aumentata dall'ipocalcemia
- Non è influenzata dalla calcemia
- È influenzata dalla fosforemia

e. È aumentata dall'aumento della calcemia.

**3) Il livello di azione farmacodinamica del calciomimetico:**

- a. È direttamente proporzionale al livello di concentrazione massimale post-assorbitiva del farmaco
- b. È inversamente proporzionale alla concentrazione massimale
- c. È indipendente dalla concentrazione del farmaco
- d. Cresce al crescere della concentrazione sino a dosaggi superiori al grammo
- e. È molto simile tra paziente e paziente.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet [www.sin-italy.org/gin](http://www.sin-italy.org/gin) e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

### Uso pre-clinico dei calciomimetici

Numerosi studi sperimentali pre-clinici hanno dimostrato l'efficacia dei calciomimetici nel controllo secretivo del PTH. I calciomimetici sono infatti in grado di indurre una rapida riduzione del PTH e già dopo circa 120 minuti dalla somministrazione per via orale, il PTH inizia a ridursi, raggiungendo il suo minimo tra la quarta e la sesta ora. L'intensità dell'effetto di riduzione sulla secrezione è dipendente entro certi limiti dalla dose somministrata (46-48). Questo effetto rapido è in parte legato alla ridotta dismissione delle molecole di PTH già sintetizzate e contenute nei granuli secretivi delle cellule paratiroidi e in parte ad una ridotta sintesi a sua volta secondaria ad una diminuita trascrizione dell'mRNA e ad eventi post-translazionali (49). Inoltre i calciomimetici sembrerebbero capaci di prevenire l'iperplasia delle ghiandole paratiroidi quantomeno in un modello sperimentale di IPS nel ratto uremico (50).

Altri studi sperimentali hanno poi dimostrato che la riduzione dell'espressione del CaSR sulla superficie delle cellule paratiroidi nel ratto uremico, è in gran parte prevenuta dalla somministrazione del calciomimetico (51).

Di particolare interesse sono poi i risultati di alcuni studi che suggeriscono che la somministrazione dei calciomimetici potrebbe essere in grado di inibire la progressione della fibrosi glomerulare e interstiziale come la precipitazione di sali di calcio nell'interstizio renale, evento sicuramente correlato alla progressione dell'insufficienza renale (52, 53).

### Uso clinico dei calciomimetici

L'uso clinico dei calciomimetici di prima generazione fu limitato come già detto dalla loro scarsa biodisponibilità e dalla notevole interferenza metabolica con numerosi farmaci. La produzione di una seconda generazione di composti, dotati di un profilo farmacocinetico più favorevole,

ha dato il via ad una serie di studi clinici sia nel campo dell'iperparatiroidismo primitivo e ancor più in quello dell'iperparatiroidismo secondario del paziente uremico.

Una tra le prime esperienze effettuate in pazienti con iperparatiroidismo primitivo dimostrò che il calciomimetico di seconda generazione AMG 073 era efficace nel ridurre i livelli sierici sia del PTH che di calcio (54); tali risultati furono poi replicati in altri studi di casistiche monocentriche.

La maggior parte degli studi, mono e multicentrici, si sono però focalizzati prevalentemente sulla valutazione della efficacia di tale composto nel controllo dell'iperparatiroidismo secondario in corso di uremia in fase dialitica. Nella maggioranza di questi studi sono state valutate dosi progressivamente crescenti ed estremamente variabili del calciomimetico AMG 073 (5 → 180 mg) somministrato per os, per periodi di tempo variabili da 1 a 180 giorni (54-57).

Questi studi hanno convenuto nel confermare l'efficacia del calciomimetico nell'indurre una riduzione dei livelli di PTH superiore al 30% dei valori basali in oltre il 50% dei pazienti trattati. La riduzione del PTH era poi associata ad una contemporanea riduzione sia del calcio che del fosforo, di circa il 5-7%, con conseguente riduzione del prodotto calcio x fosforo di circa il 15%.

Il *trial* più corposo sino ad ora prodotto sull'argomento è quello derivato dalla sintesi dei risultati di due studi condotti rispettivamente negli USA il primo e in Europa e in Australia il secondo. Data la completa sovrapposizione del disegno dello studio (studi randomizzati, a doppio cieco, con placebo nel gruppo di controllo), i risultati sono stati analizzati in modo cumulativo, per un totale di 741 pazienti entrati nello studio (58). I pazienti erano stati trattati con cinacalcet o placebo, dati in un'unica somministrazione, a dosi progressivamente crescenti da 30 a 180 mg, allo scopo di portare i livelli di PTH entro il *range* ottimale (150-250 pg/mL di i-PTH) previsto dalle K/DOQI (59). Il raggiungimento dei valori *target* di PTH costituiva l'endpoint primario dello studio. 43% dei pazienti trattati con cinacalcet contro il 5% del gruppo in placebo raggiunsero l'endpoint primario. Tra i dati di maggior rilievo è da segnalare che la probabilità di successo della terapia non era influenzata dai valori di partenza del PTH. Si confermava poi, ancora una volta un calo di circa il 7% per il calcio e di oltre l'8% per il fosforo, con una riduzione importante del prodotto calcio x fosforo (oltre il 14%). Questo ultimo aspetto conferiva a tale classe di farmaci un profilo farmacologico unico, se confrontato con gli altri mezzi terapeutici oggi disponibili nel controllo dell'iperparatiroidismo secondario uremico.

Inoltre, l'efficacia di tale farmaco sembrerebbe mantenersi anche nel lungo termine, come suggerito da un recente studio nel quale in 59 pazienti uremici, trattati per 100 settimane con cinacalcet, il controllo dei livelli di PTH, calcio e fosforo si mantenne sostanzialmente invariato per tutto il periodo dell'osservazione (60).

Passando a considerare il profilo di sicurezza del farmaco, gli effetti collaterali più frequentemente descritti sono

rappresentati dall'ipocalcemia e dai disturbi gastroenterici.

L'ipocalcemia può trovare spiegazione in numerosi potenziali fattori causali. Un primo fattore potrebbe essere rappresentato dalla rapida riduzione dei livelli di PTH che può determinare una riduzione dei flussi di calcio in uscita e/o ad un incremento dei flussi in ingresso nell'osso (in modo molto simile a quanto avviene nell'immediato post-PTX). Un secondo potenziale fattore potrebbe essere rappresentato dall'effetto diretto del calcimimetico sul CaSR o su altri recettori associati alle proteine-G espressi a livello delle cellule ossee, i quali, se stimolati, potrebbero indurre modificazioni del flusso del Calcio, prevalentemente verso l'osso, in modo indipendente dai livelli di PTH (28, 29). Non è possibile escludere che l'induzione dell'attività del CaSR espresso sugli enterociti possa determinare una riduzione del trasporto intestinale del calcio, in modo del tutto simile a quanto avviene per i trasportatori tubulari renali (vedi paragrafi precedenti).

I disturbi gastroenterici potrebbero essere almeno in parte spiegati dagli effetti che la stimolazione del CaSR ha sulla secrezione di HCl. L'aumento della secrezione acida potrebbe essere sostenuta sia da una stimolazione diretta della pompa protonica che da un aumento della secrezione di gastrina da parte delle cellule antrali, con conseguente stimolazione dei recettori istaminergici (30).

Qualunque sia la causa, questi effetti collaterali, solo in un limitato numero di casi, inducono all'interruzione del trattamento.

Sebbene nessuno degli studi citati fosse stato disegnato per valutare gli effetti del trattamento con cinacalcet sugli *outcome* clinici, una analisi combinata dei dati di sicurezza di tutti questi studi ha suggerito che i pazienti trattati con il calcimimetico potrebbero avere una minore necessità di sottoporsi a paratiroidectomia, una ridotta incidenza di fratture ossee e di ospedalizzazione per cause cardiovascolari (61). Naturalmente si attendono i risultati di studi prospettici disegnati per dare una risposta specifica a tali quesiti.

In un'analisi successiva di una parte dei dati prodotti dagli studi menzionati, è stata valutata l'eventuale differenza di efficacia del trattamento con Cinacalcet tra i pazienti trattati con dialisi extracorporea e quelli trattati con dialisi peritoneale (45). I risultati dello studio hanno dimostrato che l'efficacia del farmaco era del tutto sovrapponibile nei due gruppi di pazienti.

Un aspetto di particolare interesse che è emerso dall'uso del calcimimetico è la notevole variabilità di risposta che si osserva nei differenti pazienti, con alcuni in cui la risposta inibitoria sui livelli di PTH si produce in tempi molto brevi (7-10 giorni) e in modo persino eccessivo anche con dosi minimali di Cinacalcet (30 mg a di alterni) e altri che non mostrano risposta neppure per dosi massimali (180 mg/die) di farmaco. Tali differenze non sembrano dipendere dal grado di iperparatiroidismo pre-trattamento. È possibile che esse siano dovute ad una variabilità della farmacocinetica e farmacodinamica del cinacalcet. Uno studio

recente ha dimostrato un'estrema variabilità interindividuale nei valori farmacocinetici di Cinacalcet (AUC, Cmax), definendo inoltre una relazione curvilinea tra i livelli plasmatici del calcimimetico e la percentuale di soppressione del PTH, col raggiungimento di soppressioni massimali solo per livelli di cinacalcet superiori a 20 ng/mL (44). Un'altra possibilità potrebbe poi essere legata a varianti polimorfiche del CaSR, alcune delle quali potrebbero definire genotipi del recettore più o meno sensibili all'effetto degli agonisti e degli induttori allosterici, come sembrerebbe suggerito da recenti segnalazioni (61).

L'interesse all'uso dei calcimimetici non poteva non indurre all'uso di tale farmaco in fasi più precoci dell'IPS. Uno studio effettuato su un piccolo numero di pazienti con IRC in fase conservativa ha confermato la capacità di controllare il livello di PTH meglio che la terapia tradizionale (riduzione > del 30% nel 56% verso il 19% dei pazienti nei due gruppi), senza variazioni degne di nota nei livelli di calcio e fosforo (62). È attualmente in corso uno studio multicentrico su pazienti con IRC in fase pre-uremica che in breve potrà fornire dati certamente più esaurienti su tale argomento. In particolare sarà interessante valutare tra l'altro l'effetto della riduzione del PTH sui livelli della fosforemia, in una condizione in cui la riduzione dell'escrezione urinaria di fosfati, potrebbe giocare un ruolo preponderante rispetto alla riduzione del riassorbimento osseo, con un effetto netto iperfosforemizzante.

Un altro campo su cui è presente un vivo interesse nell'uso del calcimimetico è quello che riguarda il trattamento dell'IPS nel paziente trapiantato di rene. Alcuni studi preliminari, su piccoli gruppi di pazienti, dimostrerebbero risultati relativamente interessanti, con un buon controllo dei livelli di PTH e del calcio e una tendenza ad un incremento dei livelli fosforemici (63, 64).

## Test di verifica

### 4) Il calcimimetico induce:

- Nell'uremico in dialisi, una riduzione del PTH associata ad ipocalcemia e ad un discreto incremento della fosforemia
- Nell'uremico in dialisi, una riduzione del PTH, nessuna variazione calcemica e una discreta ipofosforemia
- Nel paziente trapiantato di rene, una riduzione del PTH, un incremento della calcemia e nessuna variazione della fosforemia
- Nel paziente uremico in fase pre-uremica, una riduzione del PTH comparabile a quella ottenibile con la terapia tradizionale
- Una riduzione del PTH, associata ad ipocalcemia e ad una discreta riduzione della fosforemia.

### 5) Il più frequente effetto collaterale legato all'uso del calcimimetico è:

- L'ipocalcemia

- b. Cefalea
- c. I disturbi gastroenterici
- d. Tachicardia
- e. Dispnea.

**6) Quale delle seguenti affermazioni è corretta:**

- a. È controindicata l'associazione del calciomimetico con vitamina D
- b. È controindicata l'associazione del calciomimetico con i chelanti del fosforo contenenti calcio
- c. Il calciomimetico aumenta la necessità di eseguire la PTX
- d. Il calciomimetico facilita l'uso della vitamina D
- e. Il calciomimetico funziona meno nei pazienti in dialisi peritoneale.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet [www.sin-italy.org/gin](http://www.sin-italy.org/gin) e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

## Note conclusive

Sebbene questa nuova classe di farmaci si presenti come un vero importante avanzamento nel trattamento dell'iperparatiroidismo dell'uremia, sarà necessario comunque chiarire numerosi punti che al momento lasciano aperti numerosi interrogativi (Tab. III).

Innanzitutto, sarà da stabilire qual è il tempo giusto per l'inizio di una terapia con i calciomimetici. Sappiamo infatti che, per un lungo periodo di tempo nel corso evolutivo dell'IRC, l'iperparatiroidismo secondario rappresenta un meccanismo di compenso che controbilancia la ridotta disponibilità di vitamina D, la tendenza alla ritenzione di

fosfati e la ridotta risposta dell'osso a livelli normali di PTH.

In secondo luogo, sarà probabilmente obbligatoria l'associazione con la vitamina D o i suoi analoghi e con i chelanti del fosforo contenenti calcio e per tali associazioni sarà necessario ridefinire le dosi e gli schemi terapeutici.

Ancora, sarà necessario accertare l'impatto di questi nuovi schemi terapeutici sul tessuto osseo e sull'apparato cardiovascolare, che è verosimilmente quello che sino ad ora ha pagato il più alto prezzo ai trattamenti più "arditi" dell'iperparatiroidismo uremico.

Infine, sarà obbligatorio sorvegliare con estrema attenzione su tutti gli effetti collaterali anche apparentemente meno correlati alle problematiche metaboliche del calcio e fosforo, considerata la quasi ubiquità del CaSR.

In conclusione, i calciomimetici rappresentano di certo un avanzamento importante nel campo del trattamento dell'iperparatiroidismo secondario dell'uremia e condizioneranno sostanzialmente l'approccio terapeutico. La loro utilizzazione dovrà però essere accompagnata, oltre che da una notevole attenzione nel monitoraggio di qualsiasi effetto collaterale potenzialmente associato all'uso nel lungo termine di questi farmaci, anche alla consapevolezza che qualsiasi progresso nella terapia deve mantenere viva la memoria delle acquisizioni conoscitive precedenti e ancor più degli errori compiuti nel passato, dettati spesso da un eccessivo entusiasmo e da un eccesso di confidenza nei confronti di nuove proposte terapeutiche.

## Riassunto

L'attuale terapia dell'iperparatiroidismo secondario del paziente uremico ha un successo limitato nell'ottenere il raggiungimento dei valori di PTH, calcio e fosforo indicati

### TABELLA III - PUNTI DA CHIARIRE NELL'USO DEI CALCIOMIMETICI

- Definire le dosi minime e massime efficaci
- Definire gli schemi di trattamento più idonei (terapia continua, a cicli, associazione con vitamina D, chelanti del fosforo, ecc..)
- Definire nella risposta terapeutica e nel profilo di sicurezza il ruolo di:
  - Genetici
  - Farmacocinetici
  - Farmacodinamici
- Definire l'impatto sul tessuto osseo
- Definire l'impatto sul sistema cardio-vascolare
- Definire l'impatto su tutti gli altri sistemi cellulari dove è espresso il CaSR
- Uso nell'IRC pre-dialitica
- Uso nel paziente trapiantato di rene
- Sicurezza nel lungo termine
- Profilo costo-efficacia dei vari schemi terapeutici



dalle linee guida internazionali (NKF-K/DOQI). La scoperta e caratterizzazione di un nuovo recettore di membrana in grado di "sentire" minime variazioni dei livelli di calcio extracellulare (CaSR) ha dato inizio ad un'intensa ricerca nel tentativo di produrre composti in grado di modularne l'attività. Il CaSR è espresso sulla superficie delle cellule coinvolte nella secrezione degli ormoni calcio-regolatori (paratiroidei, cellule C tiroidee), delle cellule coinvolte nel trasporto del calcio (cellule intestinali, cellule ossee, cellule tubulari renali) e in altri tessuti dove svolge compiti non del tutto definiti. Alla stimolazione del CaSR fa seguito l'attivazione di una serie di segnali intracellulari mediati dalle G-proteine, tra i quali, almeno a livello paratiroideo, di particolare importanza è il rapido (secondi o minuti) aumento dell' $IP_3$  con il conseguente aumento del calcio intracellulare che inibisce la secrezione del PTH. Una stimolazione prolungata del CaSR è in grado di indurre una riduzione della produzione del PTH e verosimilmente anche della proliferazione delle cellule paratiroidee. Sono note più di un centinaio di mutazioni del gene codificante per il CaSR, alcune delle quali associate a riduzione o perdita altre a guadagno di funzione, ma tutte sostanzialmente condizionanti quadri di patologia pressoché esclusivamente coinvolgenti il metabolismo del PTH e del Calcio.

Numerosi cationi inorganici e organici sono in grado di interagire con il CaSR, mimando l'azione del calcio (Calcimimetici di Tipo I), ma il loro uso è limitato nel campo clinico da una serie di motivazioni legate a problemi di potenziale tossicità e/o di scarsa maneggevolezza. Una seconda classe di composti (NPS R-467, S-467, R-568, S-568, AMG 073), definiti in modo improprio calcimimetici di tipo II, sono di fatto in grado di modulare l'azione del CaSR, non tanto competendo con il *sito* calcio-sensibile, ma interagendo con il dominio intramembranoso del recettore, aumentando la sensibilità del CaSR agli agonisti. Nelle esperienze precliniche, tali modulatori del

CaSR si sono dimostrati efficaci nel ridurre i livelli di PTH, impedendo lo sviluppo dell'iperplasia ghiandolare e inducendo la regressione dell'osteite fibrosa quantomeno nell'animale. Gli studi clinici, che hanno prevalentemente utilizzato l'AMG 073 (Cinacalcet), hanno confermato l'efficacia del farmaco nel controllo dell'iperparatiroidismo primitivo e secondario dell'uremia. In particolare, in quest'ultima condizione tale calcimimetico ha dimostrato un profilo di efficacia differente rispetto a tutti gli altri farmaci sino ad ora disponibili nella terapia dell'IPS uremico, potendo ridurre i livelli di PTH in associazione ad una riduzione del calcio e del fosforo. Gli effetti collaterali riportati sono riferibili a disturbi gastroenterici e ipocalcemia, solo raramente sintomatica.

L'uso dei calcimimetici, che rappresenta un importante avanzamento nel campo della terapia dell'IPS dell'uremia, dovrà comunque essere accompagnato da uno stretto controllo clinico per le potenziali interferenze con altri sistemi cellulari dove le sue funzioni sono ancora poco note e dalla valutazione di tutte le sue potenziali applicazioni e associazioni con gli altri farmaci in uso.

Indirizzo degli Autori:  
Prof. Piergiorgio Messa  
Nefrologia, Dialisi e Trapianto  
Padiglione Croff  
Ospedale Maggiore-Policlinico  
Via Commenda, 15  
20122 Milano  
e-mail: pmessa@policlinico.mi.it

## Bibliografia

1. Drüeke T. The pathogenesis of parathyroid gland hyperplasia in chronic renal failure (nephrology forum). *Kidney Int* 1995; 48: 259-72.
2. Malluche H, Faugere MC. Renal bone disease 1990: an unmet challenge for the nephrologists. *Kidney Int* 1990; 38: 193-211.
3. Amann K, Ritz E, Wiest G, et al. A role of parathyroid hormone for the activation of cardiac fibroblasts in uremia. *J Am Soc Nephrol* 1994; 4: 1814-9.
4. Amann K, Ritz E. Cardiac disease in chronic uremia: pathophysiology. *Adv Ren Replace Ther* 1997; 4: 212-24.
5. Vaziri ND, Wang XQ, Liang K. Secondary hyperparathyroidism downregulates lipoprotein lipase expression in chronic renal failure. *Am J Physiol* 1997; 273: F925-30.
6. Fadda GZ, Hajjar SM, Perna AF, et al. On the mechanism of impaired insulin secretion in chronic renal failure. *J Clin Invest* 1991; 87: 255-61.
7. Rostand SG, Drueke TB. Parathyroid hormone, vitamin D, and cardiovascular disease in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999; 56: 383-92.
8. Andress DL, Norris KC, Coburn JW, et al. Intravenous calcitriol in the treatment of refractory osteitis fibrosa of chronic renal failure. *New Eng J Med* 1989; 321: 274-9.
9. Martin KJ, Gonzalez EA, Gellens M, et al. 19-nor-1- $\alpha$ -25-dihydroxyvitamin D2 (paricalcitol) safely and effectively reduces the levels of PTH in patients with hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1427-32.
10. Goodman WG. Recent developments in the management of secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2001; 59: 1187-1201.

11. Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW, Port FK. Association of serum phosphate and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *Am J Kidney Dis* 1998; 31: 607-17.
12. Ganesh SK, Stack AG, Levin NW, et al. Association of elevated serum PO<sub>4</sub>, Ca x PO<sub>4</sub> product, and parathyroid hormone with cardiac mortality risk in chronic hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2131-8.
13. Block GA, Port FK. Re-evaluation of risks associated with hyperphosphatemia and hyperparathyroidism in dialysis patients: recommendations for a change in management. *Am J Kidney Dis* 2000; 35: 1226-37.
14. National Kidney Foundation: K/DOQI clinical practice guidelines on bone metabolism and disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42 (Suppl3): S1-201.
15. Block G, Port FK. Calcium phosphate metabolism and cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *Semin Dial* 2003; 16: 140-7.
16. Ringer S. A further contribution regarding the influence of different constituents of the blood on the contraction of the heart. *J Physiol* 1883, 4: 29-43.
17. Shoback DM, Thatcher J, Leombruno R, Brown EM. Relationship between parathyroid hormone secretion and cytosolic calcium concentration in dispersed bovine parathyroid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 3113-7.
18. Brown EM. Extracellular Ca<sup>2+</sup> sensing, regulation of parathyroid cell function, and role of Ca<sup>2+</sup> and other ions as extracellular (first) messenger. *Physiol Rev* 1991; 71: 371-411.
19. Chang W, Shoback D. Extracellular Ca<sup>2+</sup> sensing receptors – an overview. *Cell Calcium* 2004; 35: 183-96.
20. Brown EM, Gamba G, Riccardi D, et al. Cloning and characterization of an extracellular Ca<sup>2+</sup>-sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature* 1993; 366: 575-80.
21. Brown EM, Vassilev PM, Quinn S, Hebert SC. G-protein-coupled, extracellular Ca<sup>2+</sup>-sensing receptor: a versatile regulator of diverse cellular functions. *Vitam Horm* 1999; 55: 1-71.
22. Bai M. Structure-function relationship of the extracellular calcium-sensing receptor. *Cell Calcium* 2004; 35: 197-207.
23. Breitwieser GE, Miedlich SU, Zhang M. Calcium sensing receptors as integrators of multiple metabolic signals. *Cell Calcium* 2004; 35: 209-16.
24. Coburn JW, Elangovan L, Goodman WG, Frazao JM. Calcium-sensing receptor and calcimimetic agents. *Kidney Int* 1999; S73: 52-8.
25. Ward, Donald T. Calcium receptor-mediated intracellular signalling. *Cell Calcium* 2004; 35: 217-28.
26. Brown EM. Calcium receptor and regulation of parathyroid hormone secretion. *Rev Endocrine and Metab Dis* 2000; 1: 307-15.
27. Ba Jianming, Friedman Peter A. Calcium-sensing receptor regulation of renal mineral ion transport. *Cell Calcium* 2004; 35: 229-37.
28. Dvorak MM, Riccardi D. Ca<sup>2+</sup> as an extracellular signal in bone. *Cell Calcium* 2004; 35: 249-55.
29. Pi M, Faber P, Ekema G, et al. Identification of a novel extracellular cation-sensing G-protein-coupled receptor. *J Biol Chem* 2005; 280: 40201-9.
30. Hebert SC, Cheng S, Geibel J. Functions and roles of the extracellular Ca<sup>2+</sup>-sensing receptor in the gastrointestinal tract. *Cell Calcium* 2004; 35: 239-47.
31. Thakker RV. Diseases associated with the extracellular calcium-sensing receptor. *Cell Calcium* 2004; 35: 275-82.
32. Brown EM, Wilson RE, Eastman RC, Pallotta J, Marynick P. Abnormal regulation of parathyroid hormone release by calcium in secondary hyperparathyroidism due to chronic renal failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54: 172-9.
33. Brown EM. Four-parameter model of the sigmoidal relationship between parathyroid hormone release and extracellular calcium concentration in normal and abnormal parathyroid tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 56: 572-81.
34. Brown AJ, Ritter CS, Finch JL, Slatopolsky EA. Decreased calcium-sensing receptor expression in hyperplastic parathyroid glands of uremic rats: role of dietary phosphate. *Kidney Int* 1999; 55: 1284-92.
35. Messa P, Vallone C, Mioni G, et al. Direct *in vivo* assessment of parathyroid hormone-calcium relationship curve in renal patients. *Kidney Int* 1994; 46: 1713-20.
36. Malberti F, Faina M, Imbasciati E. the PTH-calcium curve and the set point of calcium in primary and secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 2398-406.
37. Gogusev J, Duchambon P, Hory B, et al. Depressed expression of calcium receptor in parathyroid gland tissue of patients with hyperparathyroidism. *Kidney Int* 1997; 51: 328-36.
38. Canadillas S, Canalejo A, Santamaria R, et al. Calcium-sensing receptor expression and parathyroid hormone secretion in hyperplastic parathyroid glands from humans. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2190-7.
39. Nemeth E, Fox I. Calcimimetics compounds: a direct approach to controlling plasma levels of parathyroid hormone in hyperparathyroidism. *Trends Endocrinol Metab* 1999; 10: 66-71.
40. Nemeth EF, Steffey ME, Hammerland LG, et al. Calcimimetics with potent and selective activity on the parathyroid calcium receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 4040-5.
41. Antonsen JE, Sherrard DJ, Andress DL. A calcimimetic agent acutely suppresses parathyroid hormone levels in patients with chronic renal failure. Rapid communication. *Kidney Int* 1998; 53: 223-7.
42. Goodman WG, Frazao JM, Goodkin DA, et al. A calcimimetic agent lowers plasma parathyroid hormone levels in patients with secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2000; 58: 436-45.
43. Kumar GN, Sproul C, Poppe L, et al. Metabolism and disposition of calcimimetic agent cinacalcet HCl in humans and animal models. *Drug Metab Dispos* 2004; 32: 1491-500.
44. Harris RZ, Padhi D, Marbury TC, Noveck RJ, Salfi M, Sullivan JT. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety of cinacalcet hydrochloride in hemodialysis patients at doses up to 200 mg once daily. *Am J Kidney Dis* 2004; 44: 1070-6.
45. Lindberg JS, Culleton B, Wong G, et al. Cinacalcet HCl, an oral calcimimetic agent for the treatment of secondary hyperparathyroidism in hemodialysis and peritoneal dialysis: a randomized, double-blind, multicenter study. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 800-7.
46. Chin JI, Miller SC, Wada M, et al. Activation of the calcium receptor by a calcimimetic compound halts the progression of secondary hyperparathyroidism in uremic rats. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 903-11.
47. Wada M, Nagano N, Furuya Y, et al. Calcimimetic NPS R-568 prevents parathyroid hyperplasia in rats with severe secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2000; 57: 50-8.
48. Wada M, Ishi H, Furuya Y, et al. NPS R-568 halts or reverses osteitis fibrosa in uremic rats. *Kidney Int* 1998; 53: 448-53.
49. Levi R, Ben-Dov IZ, Lavi-Moshayoff, Dinur M, Martin D, Naveh-Many T, Silver J. Increased parathyroid hormone gene expression in secondary hyperparathyroidism of experimental uremia is reversed by calcimimetics: correlation with post-translational modification of the trans acting factor AUF1. *J Am Soc Nephrol* 2005; in press.
50. Colloton M, Shatzten E, Miller G, Stehman-Breens C, Wada M, Lacey D, Martin D. Cinacalcet HCl attenuates parathyroid hyperplasia in a rat model of secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2005; 67: 467-76.
51. Mizobuchi M, Hatamura I, Ogata H, et al. calcimimetic compound upregulates decreased calcium-sensing receptor expression level in parathyroid glands of rats with chronic renal insufficiency. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2579-87.
52. Ogata H, Ritz E, Odoni G, et al. Beneficial effects of calcimimetics on progression of renal failure and cardiovascular risk factors. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 959-67.
53. Pattaragarn A, Foz J, Alon US. Effect of the calcimimetic NPS R-467 on furosemide-induced nephrocalcinosis in the young rat. *Kidney Int* 2004; 65: 1684-9.
54. Peacock M, Shoback DM, Greth WE, et al. The calcimimetic AMG 073 reduces serum calcium (Ca) in patients with primary hyperparathyroidism (PHPT). *J Bone Miner Res* 2001; 16: S303.
55. Goodman WG, Turner SA. Future role of calcimimetics in end-stage renal disease. *Adv Renal Replace Ther* 2002; 9: 200-8.
56. Goodman WG, Hladik GA, Turner SA, et al. The calcimimetic agent AMG 073 lowers plasma hormone levels in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol*

- 2002; 13: 1017-24.
57. Lindberg JS, Moe SM, Goodman WG, et al. The calcimimetic AMG 073 reduces parathyroid hormone and calcium x phosphorus in secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2003; 63: 248-54.
  58. Block GA, Martin KJ, de Francisco ALM, et al. Cinacalcet for secondary hyperparathyroidism in patients receiving hemodialysis. *New Eng J Med* 2004; 350: 1516-25.
  59. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: S1-201.
  60. Moe SM, Cunningham J, Bommer J, et al. Long-term treatment of secondary hyperparathyroidism with the calcimimetic cinacalcet HCl. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 2186-93.
  61. Rothe HM, Shapiro WB, Sun WY, Chou SY. Calcium-sensing receptor gene polymorphism Arg990Gly and its possible effect on response to cinacalcet HCl. *Pharmacogenetics and genomics* 2005; 15: 29-34.
  62. Charytan C, Coburn JW, Chonchol M, et al. Cinacalcet hydrochloride is an effective treatment for secondary hyperparathyroidism in patients with CKD not receiving dialysis. *Am J Kidney Dis* 2005; 46: 58-67.
  63. Serra AL, Schwarz AA, Wick FH, Marti HP, Wuthrich RP. Successful treatment of hypercalcemia with cinacalcet in renal transplant recipients with persistent hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1315-9.
  64. Kruse AE, Eisenberger U, Frey FJ, Mohaupt MG. The calcimimetic cinacalcet normalizes serum calcium in renal transplant patients with persistent hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1311-4.