

Glandes parathyroïdes, récepteur du calcium et calcimimétiques

P. Ureña

Service de néphrologie-dialyse, Clinique de l'Orangerie, Aubervilliers; Service des explorations fonctionnelles, Hôpital Tenon, Paris et INSERM U349, Hôpital Lariboisière, Paris

Résumé • Summary

Les glandes parathyroïdes, les os, les intestins et les reins régulent finement la quantité de calcium extracellulaire et par ce biais la minéralisation osseuse. Cette régulation se fait grâce à l'existence d'un récepteur membranaire sensible aux moindres variations de la concentration extracellulaire de calcium $(Ca^{2+})_{ec}$. L'activation de ce récepteur régule la sécrétion de PTH et l'excrétion urinaire de calcium. Le clonage de ce récepteur (RCa) en 1993 a permis d'identifier les causes de plusieurs maladies héréditaires caractérisées soit par une hyperparathyroïdie soit par une hypoparathyroïdie et de développer des molécules potentiellement d'intérêt dans le traitement de ces maladies. Les calcimimétiques sont des molécules ayant la propriété soit de stimuler directement le RCa soit de le rendre plus sensible aux effets du $(Ca^{2+})_{ec}$. Par ces mécanismes, ils sont capables de diminuer la sécrétion de PTH, mais également d'augmenter la sécrétion de calcitonine. Les essais avec les calcimimétiques de première génération ont montré qu'il était possible de prévenir et de freiner l'hyperparathyroïdie secondaire à l'urémie. Cependant, leur faible biodisponibilité rend leur utilisation clinique difficile. En revanche, les résultats obtenus avec un calcimimétique de deuxième génération, l'AMG-073, chez le patient urémique avec une hyperparathyroïdie secondaire, sont très encourageants. Le but de cet article est de revoir les bases physiologiques, biologiques et cliniques pour le développement des calcimimétiques et d'essayer de placer ces produits dans le contexte de l'insuffisance rénale chronique et du traitement de l'hyperparathyroïdie secondaire.

Mots-clés: Récepteur du calcium – Hyperparathyroïdie – Hypocalcémie – Hormone parathyroïdienne – Ostéodystrophie rénale.

Parathyroid glands, bones, intestins and kidneys closely regulate ionized extracellular calcium concentration and thereby bone mineral density. This regulation is accomplished by a membrane associated receptor that responds to small changes in the extracellular calcium concentration $(Ca^{2+})_{ec}$. The activation of this receptor regulates the secretion of PTH and the urinary excretion of calcium. The cloning of this calcium sensing receptor (RCa) in 1993 has allowed the identification of several hereditary disorders characterized by either a hyperparathyroidism or a hypoparathyroidism, as well as the development of pharmaceutical compounds potentially of interest for the treatment of these diseases. The calcimimetics are able either to directly stimulate the RCa or to make the RCa more sensitive to the effects of $(Ca^{2+})_{ec}$. By this way, they decrease the secretion of PTH, but they also stimulate the secretion of calcitonin. The first clinical studies with a first-generation calcimimetic have demonstrated their efficacy lowering plasma intact PTH concentration in uremic patients with secondary hyperparathyroidism. However, the low biodisponibility of these first calcimimetics predict a difficult clinical utilization. The preliminary results obtained with a second-generation calcimimetic, the AMG-073, are very promising and await long term evaluation. The goal of this manuscript is to review the physiological, biological and clinical bases for the development of calcimimetic. Moreover, to try to replace the potential use of these drugs in the context of chronic renal failure and in the treatment of secondary hyperparathyroidism.

Key words: Calcium receptor – Hyperparathyroidism – Hypocalcemia – Parathyroids hormone – Renal osteodystrophy.

■ Introduction

Le système squelettique est composé essentiellement de deux fractions, l'une organique (1/3) constituée de collagène et de cellules osseuses et l'autre minérale (2/3) constituée de calcium, phosphate, eau, magnésium, sodium, bicarbonate, citrate, fluor, zinc, fer, et d'autres électrolytes. Ce système est d'une extrême importance dans la régulation de la concentration extracellulaire de calcium $(Ca^{2+})_{ec}$ et de phosphore, mais également dans l'équilibre acido-base, hématologique et musculaire. La

masse osseuse semble être génétiquement déterminée dès l'âge embryonnaire par des molécules comme le peptide apparenté à la parathormone (PTHrP), le peptide de l'hérisson indien (ou indian hedgehog, IHH), la leptine et les protéines morphométriques de l'os (BMPs).^{1,2} Elle est ensuite, pendant toute la vie, très finement régulée, d'une part, au niveau du système nerveux central probablement par l'action hypothalamique de la leptine et de ses médiateurs,² d'autre part, au niveau périphérique par les hormones dites calciotropes comme l'hormone parathyroïdienne (PTH), la calcitonine et la vitamine D (fig. 1). La sécrétion

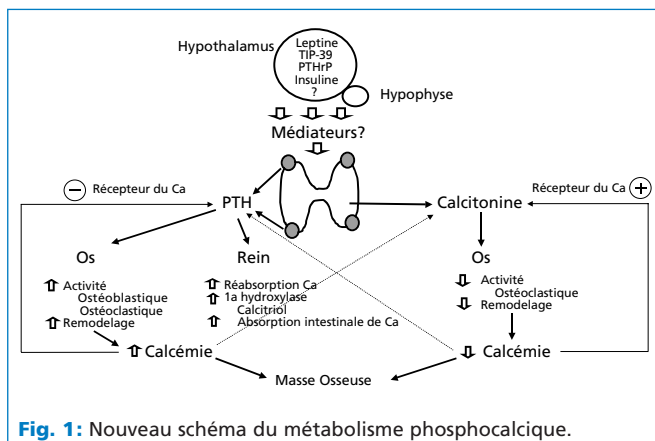


Fig. 1: Nouveau schéma du métabolisme phosphocalcique.

de PTH et de calcitonine est principalement régulée par la concentration de $(Ca^{2+})_{ec}$. Les calcimimétiques, comme le nom l'indique, sont des molécules, le plus souvent des composés pharmacologiques, ayant la propriété soit de stimuler directement le RCa soit de le rendre plus sensible aux effets du $(Ca^{2+})_{ec}$ et par ce biais de diminuer la sécrétion de PTH, mais également d'augmenter la sécrétion de calcitonine. Le but de cet article est de revoir les caractéristiques moléculaires et physiologiques du RCa récemment cloné, les altérations moléculaires du RCa responsables de certains états pathologiques jusqu'alors considérés comme d'étiologie inconnue, le développement des agents calcimimétiques et les résultats obtenus avec ces produits dans des études menées chez l'animal et chez l'homme.

■ Glandes parathyroïdes et sécrétion de l'hormone parathyroïdienne

Les glandes parathyroïdes se forment à partir des troisième et quatrième poches pharyngées endodermiques, elles sont le plus souvent au nombre de quatre, mais quelquefois elles peuvent être six, voire plus, parfois deux ou moins. La formation de ces glandes est sous la dépendance de l'expression d'un gène codant pour un facteur de transcription, le *Gcm2* pour « glial cells missing 2 ». Lorsque ce gène est invalidé par recombinaison homologue, les souris mutantes ne développent pas de glandes parathyroïdes et présentent un tableau classique d'hypoparathyroïdie.³ Cependant, des concentrations plasmatiques de PTH sont encore mesurables, suggérant une production extra-parathyroïdienne de PTH, probablement à partir de l'hypothalamus et du thymus.³⁻⁵ Les glandes parathyroïdes contiennent au moins trois types cellulaires: 1) les cellules principales dont on peut reconnaître deux types, les cellules claires et les oncocytaires. Les cellules claires correspondent à des cellules principales très chargées en glycogène et les cellules oncocytaires à des cellules principales dégénérées; 2) les adipocytes, normalement occupant 15-50% de l'espace glandulaire et 3) les cellules vasculaires.⁶ La PTH est produite et sécrétée essentiellement par les cellules principales. La molécule finalement libérée dans la circulation contient quatre-vingt-quatre acides aminés lesquels viennent d'un précurseur appelé pré-pro-PTH. Ce précurseur subit deux clivages successifs, tout d'abord, par une peptidase qui libère le pro-PTH de sa partie pré pendant le transport de la molécule vers

l'appareil de Golgi.^{7,8} Puis, une fois dans l'appareil de Golgi une autre peptidase libère la PTH de son propeptide. La PTH est alors stockée avec la chromogranine A (CgA) dans des granules sécrétoires.^{9,10} Ces granules se collent à la membrane cellulaire et relarguent la PTH et la chromogranine A par exocytose dès que la concentration de $(Ca^{2+})_{ec}$ diminue.¹¹ L'expression des gènes PTH et CgA subissent la même régulation par le $(Ca^{2+})_{ec}$. De plus, la CgA a une très grande affinité pour le calcium, ce qui fait suggérer qu'elle pourrait être un régulateur négatif de la sécrétion de PTH.^{9,10,12} *Le rôle physiologique de la chromogranine A est encore inconnu.*

Durant plus de vingt-cinq ans des équipes de chercheurs s'acharnaient à démontrer que la sécrétion de PTH était régulée par un récepteur membranaire capable de répondre aux variations minimes de la concentration du $(Ca^{2+})_{ec}$. Ils se basaient sur les arguments suivants: 1) la sécrétion de PTH in vivo, aussi bien chez l'homme que chez l'animal était principalement régulée par le $(Ca^{2+})_{ec}$, il existait un « set point » du calcium pour la concentration plasmatique de PTH. *C'est-à-dire, la concentration de calcium ionisé à laquelle la sécrétion maximale de PTH est diminuée de 50% lors d'un test dynamique d'hypocalcémie et d'hypercalcémie provoquées*; 2) in vitro, des cellules parathyroïdiennes en cultures répondaient sensiblement aux variations de la concentration de $(Ca^{2+})_{ec}$. Leur production de PTH diminuait lorsque le calcium augmentait et vice versa. Ce qui conférait au calcium un rôle de premier messenger; 3) le $(Ca^{2+})_{ec}$ stimulait également la libération de calcium intracellulaire à travers l'activation de la phospholipase C et la cascade des inositides triphosphates. Cet effet était inhibé par la toxine pertussique. Le calcium était alors considéré comme un deuxième messenger; 4) le calcium extracellulaire inhibait l'activité de l'adényl cyclase ce qui suggérait qu'il s'agissait d'un récepteur couplé aux protéines liant le GTP autrement dit les protéines G et tout particulièrement activateur de la protéine Gi; 5) il existait des états pathologiques laissant penser qu'il s'agissait d'une anomalie du « sensor » de calcium dans les glandes parathyroïdes, notamment, des familles avec une hypercalcémie hypocalciurique et PTH modérément élevée.¹³ Ce n'est qu'en 1993 que l'équipe du Pr Brown réalise une des plus grandes avancées dans le domaine de la régulation de la sécrétion de PTH et du métabolisme minéral, le clonage du RCa.¹⁴ Pour la première fois, il démontre qu'un récepteur protidique peut se lier et être activé par une molécule inorganique, en l'occurrence, le calcium.

■ Clonage du récepteur du calcium

● Structure et signalisation intracellulaire

Le RCa a été cloné par une méthode d'expression des protéines dans l'ovocyte de *Xenopus laevis*.¹⁴ En bref, le clonage a consisté en l'injection des fractions d'ARNm (polyA+) (de 4 à 6 kb) extraits à partir de glandes parathyroïdes bovines dans ces ovocytes puis à regarder, trois jours plus tard, si l'adjonction de gadolinium dans le milieu de culture provoquait des modifications du potentiel de membrane ou des courants électriques (méthode de « two-electrode voltage clamp »). Le gadolinium a été préféré au calcium pour éviter l'activation des canaux calciques. Un seul clone de 5,3 kb a été identifié et appelé BoPCaR1. L'ADN complémentaire de ce clone avait un cadre de lecture

ouvert de 3255 paires de base codant pour une protéine de 1085 acides aminés (aa) et un poids moléculaire de 121 kDa. A partir de la séquence d'aa, on pouvait supposer l'existence de trois domaines majeurs dans la molécule, un domaine extracellulaire, hydrophylque, assez large, de 613 aa, contenant également une séquence de signal peptidique consensuelle de 21 aa et neuf sites potentiels de glycosylation par le mannose et d'autres hydrates de carbone. Les études de mutagenèses dirigées ont permis de montrer que ces acides aminés glycosylés étaient capitaux pour que le RCa soit proprement exprimé à la surface membranaire, sans eux l'expression était réduite de plus de 50%. Un deuxième domaine central de 250 aa ayant une structure en hélice et traversant sept fois la membrane cellulaire, caractéristique générale des récepteurs couplés aux protéines G. Et un troisième domaine hydrophobique de 222 aa, probablement intracellulaire, contenant l'extrémité C-terminale, plusieurs sites de phosphorylation et des séquences d'aa déterminantes de la spécificité avec les protéines G.¹⁵ Le gène humain du RCa se trouve sur le chromosome 3 en position 3q21.3-24.^{16,17} Il est à noter qu'un autre gène d'importance dans le métabolisme phosphocalcique, le gène du récepteur de la PTH, est aussi sur le chromosome 3 (3p21.2-24.2).¹⁸ Le gène du RCa possède sept exons, le dernier exon code pour les sept domaines transmembranaires et pour l'extrémité C-terminale, tandis que la partie promotrice et le domaine extracellulaire N-terminal sont codés par six exons de taille plus réduite. Le RCa est un nouveau membre de la famille C, groupe II, de récepteurs liant les protéines G, laquelle comptait déjà avec les récepteurs du glutamate métabotrope, de l'acide gamma-aminoisobutyrique (GABA-B) et de l'organe voméronasal du rat.¹⁹ L'existence d'autres gènes apparentés au RCa est fort probable comme le suggèrent les études cytogénétiques réalisées chez le lapin.²⁰

Le RCa est un récepteur de faible affinité, il ne réagit qu'à des concentrations millimolaires des agonistes (3 mM pour le calcium). Ceci est probablement dû au fait qu'il n'a pas de site de liaison de haute affinité pour le calcium dans sa partie extracellulaire, comme il en existe dans des molécules comme l'EGF-LR (epidermal growth factor-like repeats) et les sites de liaison dépendant du calcium dans les hydrates de carbone. Deux régions extracellulaires très riches en acides aminés acides pourraient servir de site d'attachement du calcium et d'autres molécules polycationiques au récepteur.¹⁴ On peut dire également, que ce récepteur est très peu sélectif dans le sens où il est activé par de nombreux cations divalents comme le magnésium ou trivalents comme le gadolinium, l'aluminium et le lanthanum, et par d'autres composés polycationiques comme la néomycine, la spermine et des nombreux acides aminés. Dans l'ordre de puissance ces agonistes peuvent être classés comme suit: Gd^{3+} > néomycine > spermine > Ca^{2+} > Mg^{2+} , et leur puissance d'activation du RCa peut être augmentée par des activateurs allostériques ou calcimimétiques. Le RCa existe majoritairement en forme dimérique, configuration qui le rend plus sensible au calcium.^{21,22} Il co-localise à la surface des membranes cellulaires avec trois autres protéines: la cavéoline, l'eNOS (synthase endothéliale du monoxyde d'azote) et la protéine G_{q11} . Le rôle de ces protéines dans la régulation de la sécrétion de PTH n'est pas connu mais certaines de ces protéines sont souvent impliquées dans les phénomènes de transcytose et de signalisation intracellulaire.²³

Le clonage du RCa a permis de confirmer que son activation par le calcium, dans les ovocytes et dans les cellules transfectées avec l'ADNc du RCa, stimulait la libération de calcium intracellu-

laire, au moins par deux voies, par l'activation d'une protéine G_{q11} insensible à la toxine pertussique et par l'activation de la protéine G, sensible à cette toxine et qui subséquemment stimule la phospholipase C et inhibe l'adényl cyclase. Deux autres phospholipases, la A2 et la D sont également activées par la stimulation du RCa.^{14,15} L'activation de la phospholipase A2 se fait via l'activation de la phospholipase C, la protéine $G_{\alpha q}$, la libération de calcium intracellulaire et la voie de la calmoduline.²⁴

● ARNm du RCa et sa répartition tissulaire

Le gène du RCa contient deux promoteurs et deux exons non traduits (exons 1A et 1B) dans la région 5'. L'usage alternatif de ces exons produit de multiples ARNm de tailles différentes et de fonctions non encore élucidées. Cependant, l'analyse par Northern blot a montré que la taille du principal ARNm est de 5,3 kb et qu'il est exprimé dans les glandes parathyroïdes, les reins, la thyroïde, le cerveau et dans une grande diversité de tissus (tableau I).¹⁴ Le rôle physiologique du RCa dans ces tissus est imprécis mais le calcium pourrait via ce récepteur avoir des effets sur la prolifération et la différenciation cellulaire, l'apoptose, le niveau d'expression de certains gènes, le potentiel de membrane et le chimiotactisme²⁵ (tableau I).

● Régulation de l'expression du RCa

La liste des facteurs pouvant réguler l'expression et le fonctionnement du RCa ne cesse d'augmenter (tableau II). Premièrement, le RCa est vraisemblablement régulé par le $(Ca^{2+})_{ec}$ même s'il existe des controverses dans les études publiées. Des études réalisées chez le rat carencé en vitamine D, ou dans des cellules parathyroïdiennes bovines n'ont pas montré d'effet de l'hypocalcémie sur l'expression de l'ARNm du RCa dans les parathyroïdes.²⁶⁻²⁸ En revanche, des études in vivo, chez le poulet, et in vitro avec des cellules hypophysaires en cultures, ont montré que l'augmentation progressive du $(Ca^{2+})_{ec}$ pouvait augmenter l'expression du RCa.^{29,30}

En ce qui concerne l'âge, des données expérimentales chez le rat montrent que le vieillissement s'associe avec une augmentation de la taille des parathyroïdes et de l'expression de l'ARNm et de la protéine du RCa.³¹ Cela suggère que l'élévation de la concentration plasmatique de la PTH souvent observée avec l'âge est probablement secondaire à une altération dans la capacité du RCa des parathyroïdes à répondre aux variations du $(Ca^{2+})_{ec}$. La vitamine D semble être un déterminant majeur du niveau d'expression du RCa. Il a été montré une diminution de 40% de l'expression de l'ARNm du RCa dans les parathyroïdes des animaux déficients en vitamine D, et cette diminution était complètement corrigée par la supplémentation en calcitriol.^{27,32} L'administration de calcitriol était également capable d'augmenter l'expression du RCa de plus de 150% par rapport au groupe témoin.²⁷

Le rôle du phosphore dans la régulation du RCa est moins clair, car il a été difficile de dissocier un effet direct du phosphore d'un effet favorisé par l'hypocalcémie, l'augmentation de la PTH ou l'insuffisance rénale per se. Ainsi, plusieurs groupes n'ont pas mis en évidence de diminution de l'expression de l'ARNm du RCa dans les parathyroïdes des animaux normaux ou urémiques nourris avec un régime très riche en phosphore.^{26,33} Une seule

Tableau I: Distribution tissulaire du récepteur du calcium.

Type cellulaire	Fonction
Cellules parathyroïdiennes	Synthèse et sécrétion de PTH
Cellules parafolliculaires de la thyroïde	Augmente la synthèse et sécrétion de calcitonine (et indirectement de la sérotonine)
Monocytes circulants	Sécrétion de cytokines, prolifération
Os <ul style="list-style-type: none"> • Ostéoclastes • Ostéoblastes • Ostéocytes • Cellules de la moelle osseuse • Chondrocytes 	Résorption osseuse Prolifération?? Chimiotactisme, prolifération
Cytotrophoblaste	Transport transplacentaire de calcium
Cellules rénales <ul style="list-style-type: none"> • Glomérules • Tube proximal • Branche large de l'anse de Henle • Appareil juxtaglomérulaire • Tube collecteur 	? Synthèse de calcitriol Régulation du transport d'eau Réabsorption de calcium Sécrétion de rénine Régulation de l'action de la vasopressine
Cellules gastro-intestinales <ul style="list-style-type: none"> • Cellules G • « Goblets » • Grêle et côlon 	Sécrétion de gastrine Prolifération Absorption et sécrétion?
Pancréas <ul style="list-style-type: none"> • Cellules acinar • Cellules des canaux pancréatiques • Ilots de Langerhans 	Sécrétion du jus pancréatique Sécrétion de bicarbonate Stimule la sécrétion d'insuline
Kératinocytes	Prolifération
Fibroblastes	Prolifération et différenciation
Cellulaires mammaires	Prolifération, transport de calcium et formation de lait, régulation de la sécrétion de PTHrP
Cellules épithéliales de l'ovaire	Prolifération cellulaire
Hépatocytes	Sécrétion biliaire et transport de la bile
Système nerveux <ul style="list-style-type: none"> • Hypophyse • Hypothalamus • Terminaisons nerveuses • Neurones • Astrocytomes et méningiomes 	Modulation de la sécrétion de l'hormone de croissance, prolifération et différenciation ?? Sécrétion des neurotransmetteurs ??? Activation des canaux potassiques
Œil	?
Cellules diverses	Communication entre les cellules

Données à partir des références 14,25,48,103-125.

Tableau II: Facteurs pouvant réguler l'expression du récepteur du calcium dans les glandes parathyroïdes.

Age	Augmentation
Calcium	Augmentation
Phosphore	Diminution
Vitamine D	Augmentation
Interleukine 1	Augmentation
Toxines urémiques	Diminution
Calcimimétiques	Augmentation
Calcilytiques	Diminution

étude a retrouvé une diminution de plus de 50% de l'expression de l'ARNm du RCa chez des rats urémiques nourris avec un régime hyperphosphorémiant, mais ces animaux présentaient une hyperparathyroïdie sévère avec un taux de PTH 25 fois supérieur à la normale.³⁴ L'hypophosphorémie ne semble pas affecter le niveau d'expression du RCa ni dans les parathyroïdes ni dans les tubules rénaux.^{26,33,35}

L'interleukine 1 (IL-1) a un effet inhibiteur sur la sécrétion de PTH connu de longue date mais dont les mécanismes physiopathologiques ne sont pas élucidés malgré la démonstration de la présence des récepteurs à l'IL-1 dans les cellules parathyroïdiennes. Une étude récente vient de montrer que l'IL-1 augmente l'expression de l'ARNm du RCa dans les cellules parathy-

roïdiennes bovines en culture, ce qui suggère que l'effet inhibiteur de l'IL-1 sur la PTH pourrait passer par cette voie-là.³⁶

L'expression du RCa subit également une régulation par des facteurs non encore déterminés lors de diverses situations pathologiques telles que l'insuffisance rénale, l'hyperparathyroïdie primaire et secondaire, néoplasies, etc. Par exemple, dans les adénomes des hyperparathyroïdies primaires la diminution du RCa ne semble toucher que les ARNm contrôlés par le promoteur situé sur l'exon 1A.³⁷ Finalement, il faut s'attendre à ce que les différents composés pharmaceutiques, ayant des propriétés calcimimétiques ou calcilytiques, modifient l'expression parathyroïdienne du RCa.

■ Rôle du RCa dans la synthèse et la sécrétion de PTH

A l'état basal, les glandes parathyroïdes sécrètent la PTH de deux façons, une tonique et l'autre pulsatile. La sécrétion tonique représente 30% de la quantité totale et la pulsatile 70%. Lorsque les cellules parathyroïdiennes répondent aux changements de la concentration $(Ca^{2+})_{ec}$ et ceci en question de secondes, grâce à la haute densité de RCa exprimés à la surface membranaire de cellules parathyroïdiennes, c'est la sécrétion pulsatile de PTH qui peut augmenter jusqu'à plus de 1000% par rapport à la situation de base. La diminution du $(Ca^{2+})_{ec}$ inactive le RCa, la PLC, les protéines G (G_i et $G_{q/11}$), la cascade des inositides triphosphates et la mobilisation de calcium intracellulaire, mais les mécanismes par lesquels l'inactivation de ces médiateurs stimule la synthèse et surtout la sécrétion de PTH sont encore complètement inconnus. Similairement, l'augmentation de calcium, l'activation de RCa et les mécanismes par lesquels la sécrétion de PTH est inhibée restent encore mal élucidés. Il est connu que la PTH sort de la cellule par exocytose et que des protéines G activées sont nécessaires pour que ce processus se déroule normalement. Ces observations se basent sur le fait que, in vitro, la sécrétion de PTH peut être modulée par l'adjonction de triphosphate de guanosine (GTP) et de ses analogues (GTP γ S, GppNHp), et que ces effets semblent être distaux à l'inhibition de l'AMPC et à l'accumulation des inositides triphosphates.^{11,38} D'autres protéines impliquées dans la biogenèse, le ciblage et la fusion de vésicules avec la membrane cellulaire pourraient également jouer un rôle dans l'exocytose de la PTH, ainsi que des facteurs comme l'AMPC, la protéine kinase C (PKC), le diacylglycérol, les lipides membranaires et le calcium lui-même. Ces facteurs, en modulant l'activité de certaines kinases (ERK1/2, MAPK, etc.)³⁹ et la phosphorylation des protéines, pourraient réguler la libération de PTH. A noter que le RCa possède plusieurs sites de phosphorylation dans son extrémité C-terminale intracellulaire

lesquels pourraient interagir avec des protéines comme la CaM kinase II, la calcineurine, la calmoduline et la filamine A. A noter également qu'il semble exister une sécrétion constitutive de PTH, même à des concentrations extrêmement hautes de calcium, laquelle est probablement régulée par l'AMPC et l'activité de la PKC, mais cela nécessite encore confirmation. Ce manque de précision sur les mécanismes régulant la sécrétion de la PTH au niveau moléculaire est sans doute le résultat des difficultés retrouvées à établir une lignée de cellules parathyroïdiennes immortalisées et produisant de la PTH en réponse à la baisse de calcium sans se différencier.

■ Situations pathologiques

Plusieurs maladies congénitales et acquises dues à des dysfonctionnements du RCa ont été récemment décrites.^{32,40-43} Ainsi les mutations responsables d'une inactivation du RCa provoquent des anomalies structurales ou diminuent le niveau d'expression du récepteur. Elles peuvent être classées en trois types: 1) celles qui interfèrent avec l'expression de la protéine à la surface de la membrane cellulaire; 2) celles qui diminuent la sensibilité du RCa au $(Ca^{2+})_{ec}$ et 3) celles qui diminuent la réponse biologique du RCa activé.¹⁵ En revanche, toutes les mutations menant à une activation constitutive du RCa semblent augmenter l'affinité du RCa pour le $(Ca^{2+})_{ec}$ ainsi que l'activité biologique du récepteur (tableau III).

● Inactivation constitutive du RCa

Dans l'hypercalcémie hypocalciurique familiale (HHF) il existe une ou plusieurs mutations hétérozygotes affectant principalement le *domaine extracellulaire N-terminal* du RCa, il en résulte une insensibilité du RCa au $(Ca^{2+})_{ec}$. Cliniquement, les patients sont souvent asymptomatiques en dépit d'une hypercalcémie constante. *Le taux plasmatique de PTH est souvent normal ou légèrement élevé, la réabsorption tubulaire de calcium augmentée*

Tableau III: Maladies associées à des dysfonctionnements du récepteur du calcium.

Mutations provoquant une inactivation constitutive du récepteur		
• Hypercalcémie hypocalciurique familiale bénigne (HHF)	A. dominante	Hétérozygote
• Hyperparathyroïdie néonatale sévère	A. dominante	Homozygote
• Hypercalcémie bénigne familiale	A. dominante	Hétérozygote
Mutations provoquant une activation constitutive du récepteur		
• Hypocalcémique hypercalcémique familiale	A. dominante	Hétérozygote
• Hypoparathyroïdie familiale isolée	A. dominante	Hétérozygote
• Hypoparathyroïdie sporadique	-	Hétérozygote
Polymorphismes		
• Hypercalcémie hypocalciurique familiale		
• Hypocalcémie sporadique		
• Hyperparathyroïdie secondaire à l'insuffisance rénale chronique		
• Ostéoporose post-ménopausique		
Auto-anticorps anti-RCa		
• Hypoparathyroïdie acquise	Anticorps antagonistes de RCa	
Diminution de l'expression et du fonctionnement du récepteur dans les glandes parathyroïdes		
• Hyperparathyroïdie primaire		
• Hyperparathyroïdie secondaire à l'insuffisance rénale chronique		

et le remodelage osseux normal ou augmenté.^{16,44} L'hypercalcémie persiste après parathyroïdectomie chirurgicale raison pour laquelle cet acte est contre-indiqué. L'hyperplasie des glandes parathyroïdes associée à ce syndrome est d'allure polyclonale et non néoplasique.^{45,46}

L'hyperparathyroïdie néonatale sévère est la forme homozygote de l'HHF, souvent létale, les *nouveau-nés* présentent des difficultés à grandir, signes de malnutrition, hypotonie, constipation, difficulté respiratoire, une importante hyperplasie des parathyroïdes (polyclonale), une hypercalcémie supérieure à 4,00 mM, des taux circulants de PTH extrêmement élevés, des os déminéralisés et une cage thoracique déformée. Des fractures multiples surviennent rapidement pendant la croissance.⁴⁷ Ces enfants, à l'opposé de l'HHF, nécessitent une parathyroïdectomie chirurgicale le plus rapidement possible pour pouvoir survivre.⁴²

Ces observations cliniques d'hyperparathyroïdie en cas de mutations négatives dans le gène du RCa ont été corroborées par des modèles animaux. Ainsi, lorsque le gène du RCa a été invalidé par recombinaison homologue les souris mutantes présentaient une hyperparathyroïdie fœtale avec hypercalcémie, hyperrésorption osseuse, diminution du transport transplacentaire de calcium et paradoxalement une hypercalciurie.⁴⁸ Comme il était à prévoir, les effets sur l'os ne semblent pas être secondaires au manque du RCa mais seraient plutôt des effets directs de l'élévation de la PTH. Cela est suggéré par le fait que les ostéoblastes isolés à partir de ces animaux ne montrent pas d'anomalies. Ils répondent normalement au $(Ca^{2+})_{ec}$ par une augmentation de leur prolifération, de leur synthèse d'ADN et de leur maturation. Ce qui laisse à penser que les ostéoblastes pourraient avoir un autre « sensor » du calcium différent du RCa.⁴⁹

● Activation constitutive du RCa

Le syndrome d'hypocalcémie autosomique dominante avec hypercalciurie est due à des mutations dans le domaine extracellulaire du RCa responsables d'une augmentation de l'affinité du récepteur pour le $(Ca^{2+})_{ec}$. Ces patients présentent une hypocalcémie majeure, paradoxalement associée à une hypercalciurie. Ils sont souvent traités par les sels calciques et les dérivés vitaminiques D. Ils développent fréquemment des lithiases rénales et une insuffisance rénale.^{40,41,50-54} Ces malades se distinguent de ceux avec une hypoparathyroïdie idiopathique par le fait que leur hypercalciurie est souvent trois ou quatre fois supérieure.⁵⁵

● Polymorphismes dans le gène du RCa

Un groupe de trois polymorphismes dans l'exon 7 du gène du RCa est souvent retrouvé dans les membres non affectés des cas d'hypercalcémie hypocalciurique familiale et dans la population normale, avec une prédominance du polymorphisme A986S. Ces polymorphismes correspondent à un groupe de nucléotides codant pour des acides aminés peu conservés dans le domaine intracellulaire C-terminal du RCa et dont l'importance fonctionnelle n'est pas connue.⁵⁶⁻⁵⁸ En dépit de cela, il a été suggéré que le polymorphisme A986S pouvait être l'un des déterminants principaux dans la régulation de la concentration plasmatique de calcium.⁵⁷ Ainsi, lorsque le polymorphisme du codon 990 a été étudié chez des patients hémodialysés, il s'est

avéré que les patients homozygotes pour les allèles AA ou CC avaient un taux de PTH significativement plus haut que les patients hétérozygotes pour ces allèles ou portant les allèles GG ou TT.⁵⁹ Un autre polymorphisme a récemment été impliqué dans la diminution de la masse osseuse chez des femmes ostéoporotiques post-ménopausées.⁶⁰ En revanche, aucune mutation ni polymorphisme particulier dans le gène du RCa n'a été mis en évidence dans le cas des tumeurs parathyroïdiennes histologiquement caractérisées (adénomes primaires, hyperplasies, carcinomes, hyperparathyroïdie urémique) ni dans le cas d'hypercalciuries idiopathiques avec lithiases.⁶¹⁻⁶⁴

● Hypoparathyroïdie acquise par anticorps antagonistes du RCa

L'hypoparathyroïdie acquise est une entité observée communément dans le cadre du syndrome polyglandulaire auto-immun de type I, lequel se caractérise par la présence de: candidose mucocutanée, hypoparathyroïdie, insuffisance surrénalienne, anémie pernicieuse, hépatite chronique, alopecie et hypogonadisme primaire. Chez environ 20% des patients présentant une hypoparathyroïdie, le sérum prélevé réagissait contre un antigène membranaire extrait à partir de cellules parathyroïdiennes et ayant un poids moléculaire proche de celui du RCa (120-140 kDa). L'équipe de Li et coll. vient de démontrer que 56% de ces patients ont un auto-anticorps dirigé contre une partie du domaine extracellulaire du RCa.⁶⁵

● Diminution de l'expression et du fonctionnement du RCa dans les glandes parathyroïdiennes

Plusieurs études réalisées ces dernières années ont montré une importante réduction de l'expression de l'ARNm et de la protéine du RCa dans le tissu parathyroïdien des patients opérés pour hyperparathyroïdie primaire et secondaire.^{34,66-72} Cette diminution du RCa est plus marquée dans les formations nodulaires que dans les tumeurs purement hyperplasiques des parathyroïdes.^{71,73} Similairement, lorsqu'est étudié l'effet du $(Ca^{2+})_{ec}$ sur la libération de calcium intracellulaire sur des cellules dispersées provenant de patients urémiques avec hyperparathyroïdie secondaire, il est observé une diminution significative du nombre de cellules répondant au calcium par rapport aux contrôles et aux hyperparathyroïdies primaires.⁷⁴ Il faut cependant signaler que l'interprétation de ces résultats est encore aujourd'hui très délicate, car: 1) il s'agit de cas extrêmes échappant à toute thérapeutique médicale; 2) la méthodologie de quantification employée n'est pas parfaite, puisque tous les résultats publiés ont été obtenus après analyses par immunohistochimie ou par hybridation in situ. Des résultats obtenus par des méthodes plus quantitatives telles que le Northern blot, protection à la ribonucléase, PCR quantitative ou Western blot sont encore nécessaires. A titre d'exemple, dans une publication récente, il a été montré, en utilisant une méthode de PCR quantitative, que l'expression de l'ARNm du RCa n'était pas diminuée dans les glandes parathyroïdes des patients opérés d'hyperparathyroïdie primaire;⁷⁵ 3) le « set-point » du calcium pour la sécrétion de PTH n'est pas plus élevé chez les patients avec hyperparathyroïdie secondaire que chez les sujets normaux⁷⁶ et 4) même s'il existe

une diminution du nombre et du fonctionnement du RCa la majorité des patients urémiques répondent par une baisse de la PTH après administration d'un calcimimétique.⁷⁷

■ Calcimimétiques

Les calcimimétiques sont des molécules ou des composés pharmaceutiques capables de rendre le RCa plus sensible aux effets du $(Ca^{2+})_{ec}$ (tableau IV). Il peuvent être classés en deux types: le type I qui correspond à toute molécule pouvant stimuler directement le RCa, et le type II qui correspond aux activateurs allostériques du RCa, c'est-à-dire, des produits capables de changer la conformation structurale du RCa et d'augmenter d'une façon stéréo sélective sa sensibilité au $(Ca^{2+})_{ec}$.⁷⁸ Ces calcimimétiques de type II n'ont pas d'effet en l'absence de $(Ca^{2+})_{ec}$. Leur site d'action sur le RCa est probablement localisé au niveau du septième domaine transmembranaire comme l'ont suggéré les études de mutations spontanées et de mutagenèse dirigée.⁷⁹ Les deux types de calcimimétiques réduisent la sécrétion de PTH d'une manière dose-dépendante, ce qui les rend potentiellement d'intérêt dans le traitement médical des hyperparathyroïdies.

● Etudes in vitro

Plusieurs calcimimétiques de type II ont déjà été fabriqués par les laboratoires NPS Pharmaceutical Inc., Salt Lake City, Utah, Etats-Unis, à partir d'une molécule mère la «fendiline», un ancien bloqueur des canaux calciques. Une liste non exhaustive de ces produits phénylalkylaminés est présentée dans le tableau IV. On note que le R-énantiomère d'une même molécule est environ dix fois plus puissant que le S-énantiomère. Par exemple, le NPS R-568 ((R)-N-(3-methoxy-(α -phényléthyl)-3-(2'-chlorophényl)-1-propylamine hydrochloride)) inhibe la sécrétion de PTH, par des cellules parathyroïdiennes bovines en culture, avec une IC₅₀ de 22 nM alors que le NPS S-568 nécessite 1 μ M.⁸⁰⁻⁸² Ces produits stimulent également la sécrétion de calcitonine via le RCa présent dans les cellules C de la thyroïde, mais la ED₅₀ est environ quarante fois plus grande (40 mg/kg) que celle pour l'inhibition de la sécrétion de PTH (1 mg/kg).⁸³ Le NPS R-568 augmente également l'effet du calcium sur l'hydrolyse des inositides triphosphates et la libération de calcium intracellulaire dans les cellules HEK-293 transfectées avec l'ADNC du RCa.⁷⁹ Dans ces mêmes cellules, il active aussi des canaux cationiques non sélectifs.⁸⁴

● Etudes chez l'animal sain

Lorsque le NPS R-568 est administré par gavage chez le rat sain, il provoque une diminution rapide et dose-dépendante (ED₅₀ de 1,1 \pm 0,7 mg/kg) de la concentration plasmatique de la PTH et parallèlement du calcium, mais avec une ED₅₀ légèrement supérieure pour ce dernier (10,4 \pm 3,7 mg/kg). A la dose de 3,3 mg/kg, la PTH atteint son taux minimum à la quinzième minute. Et aux doses de 10 à 100 mg/kg la survenue de l'hypocalcémie est presque immédiate, souvent avant la trentième minute, et persistante puisqu'elle est encore importante au terme des 24 heures. A noter que dans ces études, la binéphrectomie n'affectait pas la cinétique ni le degré de l'hypocalcémie, suggérant que

Tableau IV: Agonistes et antagonistes du récepteur du calcium.

Agonistes		
Calcimimétiques de type I	Charges positives nettes	EC50
• Cations inorganiques		
– Calcium	2	1,2 mM
– Magnésium	2	5,2 mM
– Lanthane	3	33 μ M
– Gadolinium	3	20 μ M
– Aluminium	3	4 mM
– Baryum	2	?
– Cadmium	2	?
– Nickel	2	?
– Cobalt	2	?
– Fer	2	?
– Plomb	2	0,1 mM
• Polyamines		
– Spermine	3	150 μ M
– Spermidine	4	2,0 mM
– Pentaéthylènehexamine	6	500 μ M
– Hexacycline	6	21 μ M
• Aminosides		
– Streptomycine	3	600 μ M
– Békanamycine	5	200 μ M
– Gentamycine	5	150 μ M
– Néomycine	6	30 μ M
• Acides aminés polybasiques et autres peptides		
– Protamine	21	75 μ M
– Polylysine (38 kDa)	55	3 nM
– Polyarginine (100 kDa)	640	4 nM
Calcimimétiques de type II		
– NPS R-467	1	4,8 μ M
– NPS S-467	1	70 μ M
– NPS R-568	1	0,6 μ M
– NPS S-568	1	9,8 μ M
– AMG-073	?	?
– KRN568	?	(Cmax) 6,5 ng/ml
Autres		
– Thimerosal (merthiolate)	?	?
Antagoniste		
Calcilytiques		
– NPS 2143	?	?
– Lithium	?	?

Données à partir des références 24,77,80,82,89,99-102,126-129

l'effet hypocalcémiant du calcimimétique ne passait pas par l'activation du RCa tubulaire rénal mais essentiellement par la suppression de la sécrétion de PTH. Cela est également suggéré par le fait que, chez ces mêmes animaux, la parathyroïdectomie, à calcémie maintenue normale par une perfusion continue de calcium, prévient l'effet hypocalcémique du calcimimétique.^{83,85}

● Etudes chez l'homme volontaire sain

Plusieurs études ont été réalisées avec différents calcimimétiques chez l'individu sain, mais seulement deux études ont été publiées pour l'instant. L'une sous forme d'abstract dans laquelle

dix-huit femmes post-ménopausiques ont été randomisées en deux groupes, un groupe recevant du NPS R-568 par voie orale, aux doses croissantes de 10 à 400 mg/jour, et l'autre le placebo. Dans le premier groupe, il a été observé une diminution dose-dépendante du taux plasmatique de la PTH. En moyenne, le taux de réduction de la PTH était de 34%, 30 à 120 minutes après la prise de 10 mg du calcimimétique, et de 74% avec la dose de 400 mg. La durée de la diminution de la PTH était également dose dépendante et durait jusqu'à 12 heures avec la dose de 400 mg. L'effet sur la PTH s'observait malgré une baisse soutenue de la calcémie. Aucun effet indésirable s'est révélé pendant cette étude malgré l'augmentation significative de la calcitoninémie avec les plus fortes doses.⁸⁶ Dans la deuxième étude, Lalonde et coll., ont donné du NPS R-568 aux doses orales identiques, à dix-huit femmes post-ménopausiques volontaires saines. Similairement, ils ont observé une diminution maximale de la PTH après 30 à 120 minutes de la prise de 80 et 160 mg du NPS R-568.⁸¹

L'effet d'un autre calcimimétique, le KRN568, a été étudié chez six hommes volontaires sains inclus dans une étude clinique de phase I menée au Japon, et qui avait comme objectif de déterminer les effets des calcimimétiques sur la sécrétion de gastrine. Une dose unique de 25 à 400 mg du KRN568 était administrée par voie orale, à jeun et après un repas. Il a été observé que la concentration de gastrine n'augmentait significativement que chez un sujet (de 30 à 125 pg/ml), chez les autres cinq sujets, l'augmentation n'était que très modeste (de 34 à 63 pg/ml).⁸⁷

● Etudes dans le cas d'hyperparathyroïdie primaire

Une seule étude a été publiée sous forme d'article jusqu'à présent. Il s'agit d'une étude contrôlée chez vingt femmes post-ménopausées ayant une hyperparathyroïdie primaire. Elles étaient randomisées en deux groupes, un groupe recevant une dose unique de NPS R-568 par voie orale (de 4 à 160 mg), et l'autre un placebo. La dose efficace minimale de calcimimétique était de 20 mg. Cette dose provoquait une diminution du taux plasmatique de PTH de 26%, c'est-à-dire, de 77 ± 11 à 57 ± 10 pg/ml. Avec les doses de 80 et 160 mg, la PTH baissait respectivement de 42 et 51%. Le taux plasmatique de PTH le plus bas était obtenu deux heures après la prise de 80 et 160 mg de NPS R-568. La durée de la réduction du taux de PTH était également dose dépendante, ainsi la PTH revenait au taux initial quatre heures après la dose de 80 mg et huit heures après la dose de 160 mg. La calcémie ionisée n'a diminué que légèrement, de 1,35 à 1,30 mM, quatre heures après la prise de la dose la plus forte de 160 mg du calcimimétique. Similairement, la calciurie n'augmentait d'un facteur de 2,3 qu'après deux heures de la prise de 160 mg de NPS R-568. Elle retournait à la valeur basale huit heures plus tard.⁸⁸

Les résultats d'une petite étude pilote avec un calcimimétique de deuxième génération ont été présentés sous forme d'abstract à l'ASBMR 2000.⁸⁹ Il s'agissait d'une étude multicentrique, randomisée, en double-aveugle, chez vingt-deux patients atteints d'hyperparathyroïdie primaire. Onze malades ont reçu le calcimimétique AMG-073 aux doses croissantes de 30, 40 ou 50 mg/jour pendant quinze jours. Les résultats ont montré que ce calcimimétique était capable de normaliser la calcémie chez tous les patients sans avoir d'effet indésirable majeur. Le taux plasmatique de PTH baissait de 45% deux à quatre heures après la prise de 50 mg d'AMG-073 et se maintenait en dessous de la valeur initiale tout au long de l'étude.⁸⁹

● Etude à long terme chez un malade avec cancer parathyroïdien

L'efficacité et la bonne tolérance à long terme du NPS R-568 ont été démontrées chez un homme âgé de 78 ans présentant un carcinome des parathyroïdes diagnostiqué évoluant depuis an et demi. Il avait été hospitalisé aux urgences quasi moribond et traité infructueusement pendant dix-sept jours par une thérapie conventionnelle, laquelle incluait hyperhydratation à l'aide des solutés salés isotoniques, furosémide, pamidronate et calcitonine. Son état général ainsi que sa conscience restaient très altérés, sa calcémie ionisée supérieure à 1,83 mM, la PTH supérieure à 872 pg/ml et la calciurie supérieure à 20 mmol/24 h. A partir du dix-huitième jour, le NPS R-568 a été introduit à la dose de 50 mg quatre fois par jour. Trois jours plus tard les troubles neurologiques avaient régressé parallèlement à une baisse significative de la calcémie et du taux de PTH. Au vingt-cinquième jour, la dose de calcimimétique était augmentée à 100 mg quatre fois par jour et au trentième jour les solutés salés et la furosémide ont pu être interrompus. Au quarantième jour de traitement le patient a pu quitter l'hôpital alors que la calcémie ionisée était de l'ordre de 1,53 mM, la PTH de 357 pg/ml et la calciurie de 24 heures proche de 7 mmol. Il a continué le traitement pendant plus de 600 jours sans avoir besoin d'autre thérapie. Malheureusement, la maladie a continué sa progression naturelle avec des taux plasmatiques de PTH augmentant progressivement (jusqu'à 3500 pg/ml) malgré les doses de calcimimétiques et une calcémie totale maintenue entre 2,75 et 3,00 mM. Le patient est finalement décédé probablement des complications liées aux métastases.⁹⁰ Cette observation illustre bien la bonne tolérance à long terme de ce *calcimimétique* et l'absence d'effets indésirables.

● Etudes chez l'animal urémique avec hyperparathyroïdie secondaire

Six études inhomogènes ont été publiées (tableau V). Dans quatre de ces études l'IRC était obtenue par la méthode classique de néphrectomie par excision 5/6,⁹¹⁻⁹⁶ dans une autre par ligature des artères rénales⁹⁵ et dans une autre par l'injection d'adriamycine.⁹⁶ Les résultats de ces études montrent : 1) que chez les rats urémiques traités par calcimimétique, l'hyperprolifération parathyroïdienne peut être réduite de 20 et 50% en fonction de la dose utilisée ; 2) que de façon aiguë le NPS R-568 diminue le taux plasmatique de PTH de 82-94% trente minutes après son administration et ceci indépendamment du degré d'hyperparathyroïdie, de la calcémie et de la phosphorémie. La PTH reste encore significativement plus basse trois heures après le calcimimétique ; 3) que si le calcimimétique est administré dès la création de l'insuffisance rénale il est possible de prévenir l'hyperplasie des glandes parathyroïdes et l'élévation du taux plasmatique de PTH ; 4) que si le traitement par le calcimimétique est débuté quatre semaines après la création de l'état urémique, il est possible d'arrêter la progression de l'hyperparathyroïdie mais le nombre de cellules parathyroïdiennes déjà présentes au moment de l'initiation du traitement ne régresse pas ; 5) que trente jours de traitement par le calcimimétique permettent une correction des signes d'ostéite fibreuse chez des rats avec six mois d'urémie et d'hyperparathyroïdie secondaire et 6) que le traitement oral et intermittent par le calcimimétique restaure le volume osseux trabéculaire,

Tableau V: Etudes chez l'animal urémique avec hyperparathyroïdie secondaire.

Référence	Type de IRC	Dose de calcimimétique	Durée du traitement	Principaux résultats
Wada et coll. ⁹¹	Nx. 5/6 ^e	1,5-15 mg/kg/2xj (par gavage)	4 jours	50% de réduction dans le taux de prolifération des cellules parathyroïdiennes
Fox et coll. ⁹²	Nx. 5/6 ^e	5-10 mg/kg/j (par gavage)	6 heures	82-94% de réduction dans le taux plasmatique de PTH
Wada et coll. ⁹³	Ligature artérielle	30-100 µmol/kg/j (par gavage)	54 jours	50% de réduction dans le taux plasmatique de PTH
	Ligature artérielle	20 µmol/kg/j (sous-cutané)	54 jours	Normalisation du taux plasmatique de PTH
Chin et coll. ⁹⁴	Nx. 5/6 ^e	10-30 µmol/kg/j (par gavage) 20 µmol/kg/j (sous-cutané)	8 semaines	Arrêt de la progression de l'hyperparathyroïdie
Wada et coll. ⁹⁵	Nx. 5/6 ^e	3-30 mg/kg/j (par gavage)	30 jours	Corrections des signes d'hyperrésorption osseuse
Ischii et coll. ⁹⁶	Adriamycine	10 mg/kg/j (par gavage)	8 semaines	Restauration du volume trabéculaire osseux. Gain de 14% de densité osseuse
	Ligature artérielle	4,5 mg/kg/j (sous-cutané)	8 semaine	Aucun effet osseux bénéfique

l'épaisseur des travers osseux et augmente la densité osseuse de 14% dans un modèle d'ostéopathie à bas remodelage induit par l'adriamycine. Aucune amélioration n'est observée avec l'administration continue sous-cutanée. Ce qui suggère que la diminution quotidienne intermittente de la PTH induite par le NPS R-568 oral pourrait avoir des effets anaboliques sur l'os.

● Etudes chez l'homme urémique avec hyperparathyroïdie secondaire

Seulement deux articles complets ont été rapportés dans la littérature. Le premier a démontré l'effet aigu du calcimimétique NSP R-568 sur la concentration plasmatique de PTH chez sept patients hémodialysés avec une hyperparathyroïdie modérée. Deux doses de NPS R-568 étaient administrées, l'une avant la séance de dialyse et l'autre 24 heures plus tard. Quatre dosages ont été utilisés et les concentrations de 40 et 80 mg de NPS R-568 étaient considérées comme des doses faibles et celles de 120 et 200 mg comme des doses fortes. Le taux plasmatique de PTH a diminué significativement et profondément deux à quatre heures après l'administration de n'importe quelle dose du calcimimétique. Cependant, avec les doses faibles la PTH revenait à sa valeur initiale 48 heures après la prise du NPS R-568 alors qu'avec les doses fortes la PTH se maintenait environ 50% en dessous du taux basal. Similairement, la calcémie ionisée diminuait significativement de 1,30 à 1,14 mM 48 heures après la prise des doses fortes du calcimimétique. La calcitoninémie doublait quatre heures après les doses fortes retournant aux valeurs basales 48 heures plus tard.⁹⁷ Des résultats superposables ont été également rapportés sous forme d'abstract pour une autre étude. Il s'agissait d'une étude randomisée, regardant l'effet aigu sur la PTH et la calcémie d'un autre calcimimétique, le KRN

568, chez douze patients hémodialysés avec une hyperparathyroïdie plus sévère.⁹⁸

La deuxième étude a été menée chez vingt et un patients hémodialysés avec une hyperparathyroïdie modérée (PTH entre 300 et 1200 pg/ml). Ils ont été randomisés en deux groupes: un groupe de cinq patients recevant le placebo et un autre groupe de seize patients recevant 100 mg/j de NPS R-568 par voie orale pendant quinze jours. Dans le groupe traité par le calcimimétique, le taux plasmatique de PTH a été réduit de 66, 78 et 70% de façon respectivement après une, deux et quatre heures de sa prise et s'est maintenu plus bas que la valeur basale pendant les 24 heures suivantes. Sept de ces seize patients ont dû être enlevés de l'étude à cause des troubles gastro-intestinaux et des signes cliniques d'hypocalcémie (calcémie en dessous de 1,00 mM). La concentration de PTH chez les neuf malades complétant les quinze jours d'étude était significativement plus basse que la valeur initiale et que celle du groupe recevant le placebo. La phosphorémie dans les deux groupes était très variable d'un jour à l'autre, mais aucune modification significative pouvait être imputée au calcimimétique. Un point intéressant de cette étude est la présentation des données pharmacocinétiques du NPS R-568. Après une dose unique, sa concentration plasmatique maximale n'était obtenue qu'à des temps très variables allant de 1 à 24 heures. Le pic plasmatique, souvent observé entre 2,5 et 4,4 heures variait énormément d'un sujet à l'autre, de 0,42 à 42,2 ng/ml. De plus, il existait une différence supérieure à 50% dans la concentration maximale moyenne chez ces mêmes individus d'un jour à l'autre.⁷⁷ La biodisponibilité du NPS R-568 paraît être également très basse (< 1%) et son catabolisme entièrement hépatique passerait par l'un des cytochromes P450 (CYP 2D6). Ce qui laisse à penser que le maniement de ce calcimimétique en pratique courante sera un peu difficile et hasardeux.

Trois autres études, avec un autre calcimimétique oral (AMG-073), ont été récemment publiées sous forme d'abstract.⁹⁹⁻¹⁰¹ La première est une étude aiguë, multicentrique, randomisée, double-aveugle, placebo-contrôlée, portant sur 62 patients hémodialysés avec une hyperparathyroïdie secondaire. La randomisation était de 8 : 2 (AMG-073 : placebo) dans le groupe recevant 5 et 10 mg/j et de 6 : 2 dans le groupe recevant 50, 75 et 100 mg du calcimimétique. Les patients étaient hospitalisés et traités pendant 72 heures. Les résultats ont montré que les doses de 5 et 10 mg/j n'avaient aucune efficacité sur le taux plasmatique de PTH. En revanche, il existait une diminution dose-dépendante de la PTH à partir de 25 mg/j d'AMG-073. Les doses de 75 et 100 mg/j diminuaient la calcémie respectivement de 8,3 et 9,4%. Des effets indésirables mineurs ont été observés tels que des céphalées, nausées, vomissements et étourdissements.⁹⁹

Le deuxième abstract est une étude à court terme, également multicentrique, randomisée, double-aveugle, placebo-contrôlée, portant sur trente patients hémodialysés avec une hyperparathyroïdie secondaire. La randomisation était de 23 (AMG-073) : 7 (placebo). Des doses fixes d'AMG-073 par voie orale ont été administrées en hospitalisation pendant huit jours, 10 mg/j (8 patients), 25 mg/j (6 patients), 50/25 mg/j (3 patients) et 50 mg/j (6 patients). Les résultats montrent essentiellement que le taux plasmatique de PTH peut être maintenu 40-50% en dessous du taux initial avec 50/25 et 50 mg/j d'AMG-073. La calcémie, la phosphorémie et le produit phosphocalcique diminuent significativement dans les groupes traités par ces doses. Les mêmes effets secondaires mineurs que dans la précédente étude ont été observés.¹⁰⁰

Le troisième abstract est une étude à long terme, multicentrique, randomisée, double-aveugle, placebo-contrôlée, portant sur 78 patients hémodialysés avec une hyperparathyroïdie secondaire. La randomisation était de 39 (AMG-073) : 39 (placebo). Pendant les douze premières semaines de l'étude, la dose d'AMG-073 était ajustée toutes les trois semaines en fonction du taux de PTH, allant d'une dose initiale de 20 mg/j jusqu'à 30, 40 ou 50 mg/j. Ensuite, le patient restait six semaines avec une dose fixe d'entretien. A la fin de l'étude la PTH avait diminué de 26% dans le groupe AMG-073 (de 631 ± 280 à 460 ± 268 pg/ml) et augmenté de 22% dans le groupe placebo. Similairement, le produit phosphocalcique diminuait de 16,9% dans le groupe calcimimétique et augmentait de 11% dans le groupe placebo. Une hypocalcémie transitoire et asymptomatique survenait chez trois des trente-neuf patients sous AMG-073. Aucun effet indésirable majeur n'a été documenté.

Les résultats de ces études avec un calcimimétique de deuxième génération, plus biodisponible et mieux toléré que les précédents, sont très encourageants et ouvrent la voie à d'autres études à long terme avec des doses plus efficaces sur le taux plasmatique de PTH.

■ Calcilytiques

Il était logique d'imaginer que si l'on pouvait diminuer la sécrétion de PTH avec des molécules mimant les effets du calcium sur le RCa des glandes parathyroïdes, on allait également pouvoir l'augmenter avec des molécules inactivant le RCa « les calcilytiques ». Dans une étude récente Gowen et coll. démontrent que l'administration orale quotidienne de 100 μ mol/kg du calcilytique NPS2143, pendant huit semaines, à des rates ostéopéniques préalablement ovariectomisées, augmente la sécrétion

endogène de PTH et substantiellement le remodelage osseux global.¹⁰² Si ces résultats se confirment dans d'autres études, il est fort probable que le traitement de l'ostéoporose sera révolutionné dans un futur proche.

■ Conclusion

Avec le clonage du RCa et le développement des calcimimétiques, le traitement médical de l'hyperfonctionnement des glandes parathyroïdes semble être voué à un changement radical. Les essais avec les premiers calcimimétiques ont montré qu'il était possible de prévenir et de freiner l'hyperparathyroïdie secondaire à l'urémie avec une bonne efficacité et sans trop d'effets secondaires. Cependant, la faible biodisponibilité et la grande variabilité intra-individuelle du catabolisme de ces produits empêcheront sûrement leur utilisation clinique. En revanche, les premiers résultats obtenus, à court et à long terme, avec le calcimimétique de deuxième génération AMG-073, aussi bien chez l'animal que chez l'homme, sont plus qu'encourageants. D'autant qu'aucun effet secondaire grave n'a été signalé en dehors des quelques hypocalcémies. Les épisodes hypocalcémiques prédisent qu'il faudra certainement associer au traitement calcimimétique des sels de calcium et des dérivés vitaminiques D. Ces derniers seront sans doute plus faciles à gérer car les calcimimétiques baissent également la phosphorémie et le produit phosphocalcique chez le patient dialysé, ce qui limitera les risques des calcifications extra-squelettiques. Il faut espérer qu'il n'y aura plus ou peu d'indications à la parathyroïdectomie chirurgicale, mais il faudra être attentif car d'autres perturbations du métabolisme osseux pourraient être induites par ces produits. Les possibilités d'induire une ostéopathie adynamique ou une autre pathologie osseuse à bas remodelage par une suppression trop excessive de la sécrétion de PTH paraissent minimales. Car les calcimimétiques oraux provoquent une baisse intermittente du taux plasmatique de PTH ce qui pourrait avoir un effet anabolique sur l'os. Finalement, comme il est décrit dans les tableaux I et VI, la distribution presque ubiquitaire du RCa laisse également supposer que ces produits pourraient avoir des indications thérapeutiques multiples et variées.

Tableau VI : Indications médicales potentielles des modulateurs du récepteur du calcium.

Calcimimétiques
<ul style="list-style-type: none"> • Parathyroïdes <ul style="list-style-type: none"> – Hyperparathyroïdie primaire – Hyperparathyroïdie secondaire – Carcinomatose parathyroïdienne – Echec de la parathyroïdectomie chirurgicale – Localisations ectopiques des glandes parathyroïdes – Parathyromatose – Refus à une réintervention chirurgicale sur les parathyroïdes – Contre-indications chirurgicales • Cardiovasculaires <ul style="list-style-type: none"> – HTA – Diurétique – Calciphylaxis
Calcilytiques
<ul style="list-style-type: none"> • Ostéoporose • Hypercalciuries • Néphrolithiase

Remerciements

Mes remerciements vont au Dr Fabiola Terzi pour sa précieuse contribution dans l'élaboration de cet article.

Adresse de correspondance :

Dr Pablo Ureña
Service de néphrologie-dialyse
Clinique de l'Orangerie
11, Boulevard Anatole France
F-93300 Aubervilliers
E-mail : purenat@mail.planete.net



Références

1. Kronenberg H, Lee K, Lanske B, Segre G. Parathyroid hormone-related protein and indian hedgehog control the pace of cartilage differentiation. *J Endocrinol* 1997; 154: S39-S45.
2. DUCY P, AMLING M, TAKEDA S, PRIEMEL M, SCHILLING A, BEIL F, SHEN J, VINSON C, RUEGER J, KARSENTY G. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: A central control of bone mass. *Cell* 2000; 100: 197-207.
3. Günther T, Chen Z, Kim J, Priemel M, Rueger J, Amling M, Moseley J, Martin T, Anderson D, Karsenty G. Genetic ablation of parathyroid glands reveals another source of parathyroid hormone. *Nature* 2000; 406: 199-203.
4. Balling R, Erben R. From parathyroid to thymus, via glial cells. *Nature Medicine* 2000; 6: 860-1.
5. Nutley M, Parimi S, Harvey S. Sequence analysis of hypothalamic parathyroid hormone messenger ribonucleic acid. *Endocrinology* 1995; 136: 5600-7.
6. LiVolsi V. Embryology, anatomy, and pathology of the parathyroids. New York: Raven Press, Ltd, 1994.
7. Karaplis A, Lim S, Baba H, Arnold A, Kronenberg H. Inefficient membrane targeting, translocation, and proteolytic processing by signal peptidase of a mutant preproparathyroid hormone protein. *J Biol Chem* 1995; 270: 1629-35.
8. Kronenberg H, Bringham F, Segre G. Parathyroid hormone biosynthesis and metabolism. New York: Raven Press, Ltd, 1994.
9. Drees B, Rouse J, Johnson J, Hamilton J. Bovine parathyroid glands secrete a 26-kDa N-terminal fragment of chromogranin-A which inhibits parathyroid cell secretion. *Endocrinology* 1991; 129: 3381-7.
10. Fasciottto B, Denny J, Greeley G, Cohn D. Processing of chromogranin-A in the parathyroid: Generation of parastatin-related peptides. *Peptides* 2000; 21: 1389-401.
11. Matovcik L, Rhee S, Schaefer J, Kinder B. Reconstitution of calcium-regulated parathyroid hormone secretion from streptolysin-O-permeabilized parathyroid cells by guanosine 5'-O-(thio)triphosphate. *Endocrinology* 1997; 138: 1170-9.
12. Russell J, Gee P, Liu S, Angeletti R. Inhibition of parathyroid hormone secretion by amino-terminal chromogranin peptides. *Endocrinology* 1994; 135: 337-42.
13. Nemeth E. Ca²⁺ receptor-dependent regulation of cellular function. *NIPS* 1995; 10: 1-5.
14. Brown E, Gamba G, Riccardi D, Lombardi M, Butters R, Kifor O, Sun A, Hediger M, Lytton J, Hebert S. Cloning and characterization of an extracellular Ca²⁺-sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature* 1993; 366: 575-80.
15. Bai M. Structure and function of the extracellular calcium-sensing receptors (review). *Int J Mol Med* 1999; 4: 115-25.
16. Pollak M, Brown E, Chou Y, Hebert S, Marx S, Steinmann B, Levi T, Seidman C, Seidman J. Mutations in the human Ca²⁺-sensing receptor gene cause familial hypocalciuric hypercalcemia in neonatal severe hyperparathyroidism. *Cell* 1993; 75: 1297-303.
17. Janicic N, Soliman E, Pausova Z, Seldin M, Riviere M, Szpirer J, Szpirer C, Hendy G. Mapping of the calcium-sensing receptor gene (CASR) to human chromosome 3q13.3-21 by fluorescence in situ hybridization, and localization to rat chromosome 11 and mouse chromosome 16. *Mamm Genome* 1995; 6: 798-801.
18. Schipani E, Hustmyer F, Bergwitz C, Jüppner H. Polymorphism in exon M7 of the PTHR gene. *Human Molecular Genetics* 1994; 3: 1210.
19. Brown E, Pollak M, Seidman C, Seidman J, Chou Y, Hebert S. Calcium-ion-sensing cell-surface receptors. *N Engl J Med* 1995; 333: 234-40.
20. MartinDeLeon P, Canaff L, Korstanje R, Bhide V, Selkirk M, Hendy G. Rabbit calcium-sensing receptor (CASR) gene: Chromosome location and evidence for related genes. *Cytogenetics and Cell Genetic* 1999; 86: 252-8.
21. Bai M, Trivedi S, Kifor O, Quinn S, Brown E. Intermolecular interactions between dimeric calcium-sensing receptors monomers are important for its normal function. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96: 2834-9.
22. Ward D, Brown E, Harris H. Disulfide bonds in the extracellular calcium-polyvalent cation-sensing receptor correlate with dimer formation and its response to divalent cations in vitro. *J Biol Chem* 1998; 273: 14476-83.
23. Kifor O, Diaz R, Butters R, Kifor I, Brown E. The calcium-sensing receptor is localized in caveolin-rich plasma membrane domains of bovine parathyroid cells. *J Biol Chem* 1998; 273: 21708-13.
24. Handlogten M, Huang C, Shiraishi N, Awata H, Miller R. The Ca²⁺-sensing receptor activates cytosolic phospholipase A₂ via a G(Q) alpha-dependent ERK-independent pathway. *J Biol Chem* 2001; 276: 13941-8.
25. Chattopadhyay N, Brown E. Cellular « sensing » of extracellular calcium (Ca²⁺): Emerging role in regulating diverse physiological functions. *Cellular Signalling* 2000; 12: 361-6.
26. Rogers K, Dunn C, Conklin R, Hadfield S, Petty B, Brown E, Hebert S, Nemeth E, Fox J. Calcium receptor messenger ribonucleic acid levels in the parathyroid glands and kidney of vitamin D-deficient rats are not regulated by plasma calcium or 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Endocrinology* 1995; 136: 499-504.
27. Brown A, Zhong M, Finch J, Ritter C, McCracken R, Morrissey J, Slatopolsky E. Rat calcium-sensing receptor is regulated by vitamin D but not by calcium. *Am J Physiol* 1996; 270: F454-F60.
28. Brown A, Zhong M, Ritter C, Brown E, Slatopolsky E. Loss of calcium responsiveness in cultured bovine parathyroid cells is associated with decreased calcium receptor expression. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 212: 861-7.
29. Yarden N, Lavelin I, Genina O, Hurwitz S, Diaz R, Brown E, Pines M. Expression of calcium-sensing receptor gene by avian parathyroid glands in vivo: Relationship to plasma calcium. *General and Comparative Endocrinology* 2000; 117: 173-81.
30. Rodica E, Adler G, Kifor O, Quinn S, Fuller F, Krapcho K, Brown E. Calcium-sensing receptor expression and regulation by extracellular calcium in the AtT-20 pituitary cell line. *Mol Endocrinol* 1996; 10: 555-65.
31. Autry C, Kifor O, Brown E, Fuller F, Roger K, Halloran B. Ca²⁺ receptor mRNA and protein increase in the rat parathyroid gland with advancing age. *J Endocrinol* 1997; 153: 437-44.
32. DeLuca F, Baron J. Molecular biology and clinical significance of the Ca²⁺-sensing receptor. *Curr Opin Pediatrics* 1998; 10: 435-40.

33. Hernandez A, Torres A, Concepcion M, Salido E. Parathyroid gland calcium receptor gene expression is not regulated by increased dietary phosphorus in normal and renal failure rats. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: S11-S4.
34. Brown A, Ritter C, Finch J, Slatopolsky E. Decreased calcium-sensing receptor expression in hyperplastic parathyroid glands of uremic rats: Role of dietary phosphate. *Kidney Int* 1999; 55: 1284-92.
35. Caride A, Chini E, Homma S, Dousa T, Penniston J. mRNAs coding for the calcium-sensing receptor along the rat nephron: Effect of a low-phosphate diet. *Kidney Blood Press Res* 1998; 21: 305-9.
36. Nielsen P, Rasmussen A, Butters R, Felt-Rasmussen U, Bendtzen K, Diaz R, Brown E, Olgaard K. Inhibition of PTH secretion by interleukin-1B in bovine parathyroid glands in vitro is associated with an up-regulation of the calcium-sensing receptor mRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 238: 880-5.
37. Chikatsu N, Fukumoto S, Takeuchi Y, Suzawa M, Obara T, Matsumoto T, Fujita T. Cloning and characterization of two promoters for the human calcium sensing receptor (CaSR) and changes of CaSR expression in parathyroid adenomas. *J Biol Chem* 2000; 275: 7553-7.
38. LeBoff M, Oetting M, Brown E. Mechanisms underlying the stimulation of PTH release by GppNhp in permeabilized bovine parathyroid cells. *J Bone Miner Res* 1990; 5: 683-9.
39. Kifor O, MacLeod R, Diaz R, Bai M, Yamaguchi T, Yao T, Kifor I, Brown E. Regulation of MAP kinase by calcium-sensing receptor in bovine parathyroid and CaR-transfected HEK293 cells. *Am J Physiol* 2001; 280: F291-F302.
40. Pearce S, Brown E. Disorders of calcium ion sensing. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 2030-5.
41. Pearce S, Williamson C, Kifor O, Bai M, Coulthard M, Davies M, et al. A familial syndrome of hypocalcemia with hypercalciuria due to mutations in the calcium-sensing receptor. *N Engl J Med* 1996; 335: 1115-22.
42. Pearce S. Extracellular « calcistat » in health and disease. *Lancet* 1999; 353: 82-3.
43. Thakker R. Disorders of the calcium-sensing receptor. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1448: 166-70.
44. Pearce S, Trump D, Wooding C, Besser G, Heath D, Hughes I, Thakker R. Calcium-sensing receptor mutations in familial benign hypercalcemia and neonatal hyperparathyroidism. *J Clin Invest* 1995; 96: 2683-92.
45. Marx S. Contrasting paradigms for hereditary hyperfunction of endocrine cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3001-9.
46. Marx S. Hyperparathyroid and hypoparathyroid disorders. *N Engl J Med* 2000; 343: 1863-75.
47. Brown E, Pollak M, Hebert S. The extracellular calcium-sensing cell-surface receptors: Its role in health and disease. *Annu Rev Med* 1998; 49: 15-29.
48. Kovacs C, Ho-Pao C, Hunzelman J, Lanske B, Fox J, Seidman J, Seidman C, Kronenberg H. Regulation of murine fetal-placental calcium metabolism by the calcium-sensing receptor. *J Clin Invest* 1998; 101: 2812-20.
49. Pi M, Garner S, Flannery P, Spurney R, Quarles L. Sensing of extracellular cations in CasR-deficient osteoblasts. *J Biol Chem* 2000; 275: 3256-63.
50. Baron J, Winer K, Yanovski J, Cunningham A, Laue L, Zimmerman D, Cutler G. Mutations of the Ca2+-sensing receptor gene cause autosomal dominant and sporadic hypoparathyroidism. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 601-6.
51. Pollak M, Brown E, Estep H, McLaine P, Kifor O, Park J, Hebert S, Seidman C, Seidman J. An autosomal dominant form of hypocalcemia caused by a mutations in the human Ca(2+)-sensing receptor gene. *Nature Genet* 1994; 8: 303-8.
52. Okazaki R, Chikatsu N, Nakatsu M, Takeuchi Y, Ajima M, Miki J, et al. A novel activating mutation in calcium-sensing receptor gene associated with a family of autosomal dominant hypocalcemia. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 363-6.
53. Mancilla E, DeLuca F, Baron J. Activating mutations of the Ca2+-sensing receptor. *Mol Genet Metab* 1998; 64: 198-204.
54. Conley Y, Finegold D, Peters D, Cook J, Oppenheim D, Ferrell R. Three novel activating mutations in the calcium-sensing receptor responsible for autosomal dominant hypocalcemia. *Mol Gen Metab* 2000; 71: 591-8.
55. Yamamoto M, Akatsu T, Nagasa T, Ogata E. Comparison of hypocalcemic hypercalciuria between patients with idiopathic hypoparathyroidism and those with gain-of-function mutations in the calcium-sensing receptor: Is it possible to differentiate the two disorders? *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4583-91.
56. Heath H, Odelberg S, Jackson C, Teh B, Hayward N, Larsson C, Buist N, Krapcho K, Capuano I, Garret J, Leppert M. Clustered inactivating mutations and benign polymorphisms of the calcium receptor gene in familial benign hypocalciuric hypercalcemia suggest receptor functional domains. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1312-7.
57. Cole D, Peltekova V, Rubin L, Hawker G, Vieth R, Liew C, Hwang D, Evrovski J, Hendy G. A986S polymorphism of the calcium-sensing receptor and circulating calcium concentrations. *Lancet* 1999; 353: 112-5.
58. Kanazawa H, Tanaka H, Kodama S, Moriwake T, Kobayashi M, Seino Y. The effect of calcium-sensing receptor gene polymorphisms on serum calcium levels: A family hypocalciuric hypercalcemia family without mutation in the calcium-sensing receptor gene. *Endocrine J* 2000; 47: 29-35.
59. Yano S, Sugimoto T, Kanzawa M, Tsukamoto T, Hattori T, Hattori S, Chihara K. Association of polymorphic alleles of the calcium-sensing receptor gene with parathyroid hormone secretion in hemodialysis patients. *Nephron* 2000; 85: 317-23.
60. Tsukamoto K, Orimo H, Hosoi T, Miyao M, Ota N, Nakajima T, Yoshida H, Watanabe S, Suzuki T, Emi M. Association of bone mineral density with polymorphism of the calcium-sensing receptor locus. *Calcif Tissue Int* 2000; 66: 181-3.
61. Hosokawa Y, Pollak M, Brown E, Arnold A. Mutational analysis of the extracellular Ca2+-sensing receptor gene in human parathyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 3107-10.
62. Degenhardt S, Toell A, Weidemann W, Dotzenrath C, Spindler K, Grabensee B. Point mutations of the human parathyroid calcium receptor gene are not responsible for non-suppressible renal hyperparathyroidism. *Kidney Int* 1998; 53: 556-61.
63. Petrucci M, Scott P, Ouimet D, Trouve M, Proulx Y, Valiquette L, Guay G, Bonnardeaux A. Evaluation of the calcium-sensing receptor gene in idiopathic hypercalciuria and calcium nephrolithiasis. *Kidney Int* 2000; 58: 38-42.
64. Cetani F, Pinchera A, Pardi E, Cianferotti L, Vignali E, Picone A, Miccoli P, Viacava P, Marcocci C. No evidence for mutations in the calcium-sensing receptor gene in sporadic parathyroid adenomas. *J Bone Miner Res* 1999; 14: 878-82.
65. Li Y, Song Y, Rais N, Connor E, Schatz D, Muir A, Maclaren N. Autoantibodies to the extracellular domain of the calcium sensing receptor in patients with acquired hypoparathyroidism. *J Clin Invest* 1996; 97: 910-4.
66. Kifor O, Moore F, Wang P, Goldstein M, Vassilev P, Kifor I, Hebert S, Brown E. Reduced immunostaining for the extracellular Ca2+-sensing receptor in primary and uremic secondary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1598-606.
67. Farnebo F, Enberg U, Grimelius L, Bäckdahl M, Schalling M, Larsson C, Farnebo L. Tumor specific decreased expression of calcium sensing receptor messenger ribonucleic acids in sporadic primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3481-6.
68. Farnebo F, Höög A, Sandelin K, Larsson C, Farnebo L. Decreased expression of calcium-sensing receptor messenger ribonucleic acids in parathyroid adenomas. *Surgery* 1998; 124: 1094-9.
69. Yano S, Sugimoto T, Tsukamoto T, Chihara K, Kobayashi A, Kitazawa S, Maeda S, Kitazawa R. Association of decreased calcium-sensing receptor expression with proliferation of parathyroid cells in secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2000; 58: 1980-6.

70. Mathias R, Nguyen H, Zhang M, Portale A. Reduced expression of the renal calcium-sensing receptor in rats with experimental chronic renal insufficiency. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 2067-74.
71. Gogusev J, Duchambon P, Hory B, Giovannini M, Goureau Y, Sarfati E, Drüeke T. Depressed expression of calcium receptor in parathyroid gland tissue of patients with hyperparathyroidism. *Kidney Int* 1997; 51: 328-36.
72. Cetani F, Picone A, Cerrai P, Vignali E, Borsari S, Pardi E, Viacava P, Naccarato A, Miccoli P, Kifor O, Brown E, Pinchera A, Marcocci C. Parathyroid expression of calcium-sensing receptor protein and in vivo parathyroid hormone-Ca²⁺ + set-point in patients with primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4789-94.
73. Akizawa T, Ogata H, Koiwa F, Kinugasa E, Ideura T. The role of calcium-sensing receptor abnormality in the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: S66-S7.
74. Ridefelt P, Rastad J, Akerstrom G, Hellman P, Gylfe E. Imaging of Ca²⁺ + induced cytoplasmic Ca²⁺ + responses in normal and pathological parathyroid cells. *Eur J Clin Invest* 1996; 26: 1166-70.
75. Garner S, Hinson T, McCarty K, Leight M, Leight G, Quarles D. Quantitative analysis of the calcium-sensing receptor messenger RNA in parathyroid adenomas. *Surgery* 1997; 122: 1166-75.
76. Goodman W, Veldhuis J, Belin T, VanHerle A, Jüppner H, Salusky I. Calcium-sensing by parathyroid glands in secondary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2765-72.
77. Goodman W, Goodkin D, Turner S, Liu W, Coburn J. A calcimimetic agent lowers plasma parathyroid hormone levels in patients with secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2000; 58: 436-45.
78. Hammerland L, Garrett J, Hung B, Levinthal C, Nemeth E. Allosteric activation of the Ca²⁺ + receptor in xenopus laevis oocytes by NPS 467 or NPS 568. *Mol Pharmacol* 1998; 53: 1083-8.
79. Hauache O, Hu J, Ray K, Xie R, Jacobson K, Spiegel A. Effects of a calcimimetic compound and naturally activating mutations on the human Ca²⁺ + receptor and on Ca²⁺ + receptor/metabotropic glutamate chimeric receptors. *Endocrinology* 2000; 141: 4156-63.
80. Nemeth E, Steffey M, Hammerland L, Hung B, VanWagenen B, DelMar E, Balandrin M. Calcimimetic with potent and selective activity on parathyroid calcium receptor. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95: 4040-5.
81. Lalonde R, Gaudreault J, Karhu D, Marriott T. Mixed-effects modeling of the pharmacodynamic response to the calcimimetic agent 5-568. *Clin Pharmacol Ther* 1999; 65: 40-9.
82. Nemeth E, Bennett S. Tricking the parathyroid gland with novel calcimimetic agents. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 13: 1923-5.
83. Fox J, Lowe S, Conklin R, Petty B, Nemeth E. Calcimimetic compound NPS R-568 stimulates calcitonin secretion but selectively targets parathyroid gland Ca²⁺ + receptor in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 290: 480-6.
84. Ye C, Rogers K, Bai M, Quinn S, Brown E, Vassilev P. Agonists of the Ca²⁺ + -sensing receptor (CaR) activate nonselective cation channels in HEK293 cells stably transfected with the human CaR. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 226: 572-9.
85. Fox J, Lowe S, Petty B, Nemeth E. NPS R-568: A type II calcimimetic compound that acts on parathyroid cell calcium receptor of rats to reduce plasma levels of parathyroid hormone and calcium. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 290: 473-9.
86. Heath III H, Sanguinetti E, Oglesby S, Marriott T. Inhibition of parathyroid hormone secretion in vivo by NPS 5-568, a calcimimetic drug that targets the parathyroid cell-surface calcium receptor. *Bone* 1995; 16: S85.
87. Igarashi T, Ogata E, Maruyama K, Fukuda T, Azuma J. Effect of calcimimetic agent, KRN568, on gastrin secretion in healthy subjects. *Endocrine Journal* 2000; 47: 517-23.
88. Silverberg S, Bonelli H, Marriott T, Locker F, Thys-Jacobs S, Dziezic G, Kaatz S, Sanguinetti E, Bilezikian J. Short-term inhibition of parathyroid hormone secretion by a calcium-receptor agonist in patients with primary hyperparathyroidism. *N Engl J Med* 1997; 337: 1506-10.
89. Shoback D, Bilezikian J, Binder T, Graves T, Turner S, Peacock M. Calcimimetic AMG-073 normalizes total serum calcium in patients with primary hyperparathyroidism. *J Bone Miner Res* 2000; 15: S210.
90. Collins M, Skarulis M, Bilezikian J, Silverberg S, Spiegel A, Marx S. Treatment of hypercalcemia secondary to parathyroid carcinoma with a novel calcimimetic agent. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1083-8.
91. Wada M, Furuya Y, Sakiyama J, Kobayashi N, Miyata S, Ishii H, Nagano N. The calcimimetic compound NPS R-568 suppresses parathyroid cell proliferation in rats with renal insufficiency. *J Clin Invest* 1997; 100: 2977-83.
92. Fox J, Lowe S, Conklin R, Nemeth E. The calcimimetic NPS R-568 decreases plasma PTH in rats with mild and severe renal or dietary secondary hyperparathyroidism. *Endocrine* 1999; 10: 97-103.
93. Chin J, Miller S, Wada M, Nagano N, Nemeth E, Fox J. 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.
94. Wada M, Ishii H, Furuya Y, Fox J, Nemeth E, Nagano N. NPS R-568 halts or reverses osteitis fibrosa in uremic rats. *Kidney Int* 1998; 53: 448-53.
95. Wada M, Nagano N, Furuya Y, Chin J, Nemeth E. Calcimimetic NPS R-568 prevents parathyroid hyperplasia in rats with severe secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2000; 57: 50-8.
96. Ishii H, Wada M, Furuya Y, Nagano N, Nemeth E, Fox J. Daily intermittent decreases in serum levels of parathyroid hormone have an anabolic-like action on the bones of uremic rats with low-turnover bone and osteomalacia. *Bone* 2000; 26: 175-82.
97. Antonsen J, Sherrard D, Andress D. A calcimimetic agent acutely suppresses parathyroid hormone levels in patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 1998; 53: 223-7.
98. Akizawa T, Suzuki M, Tominaga Y, Saito E, Uchida E, Kawaguchi Y, Ogata E, Kurokawa K. Acute effect of calcimimetic agent (CA) on hemodialysis (HD) patients with secondary hyperparathyroidism (2HPT). *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 561A.
99. Coburn J, Barri Y, Turner S, Blaisdell P, Goodkin D, Liu W, Goodman W. Single doses of the calcimimetic AMG-073 reduce parathyroid hormone levels in a dose dependent manner in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *JASN* 2000; 11: 573A.
100. Goodman W, Turner S, Blaisdell P, Goodkin D, Liu W, Cohen R, Hladik G, Coburn J. Multiple doses of the calcimimetic AMG-073 reduce parathyroid hormone levels in a dose dependent manner in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *JASN* 2000; 11: 576A.
101. Lindberg J, Moe S, Goodman W, Coburn J, Turner S, Blaisdell P, McCary L, Brenner R, Liu W, Martin K. The calcimimetic AMG-073 reduces parathyroid hormone (PTH), phosphorus, and calcium x phosphorus product (Ca x P) in patients with ESRD and secondary hyperparathyroidism. *JASN* 2000; 11: 578A.
102. Gowen M, Stroup G, Dodds R, James I, Votta B, Smith B, Bhatnagar P, Lago A, Callahan J, DelMar E, Miller M, Nemeth E, Fox J. Antagonizing the parathyroid calcium receptor stimulates parathyroid hormone secretion and bone formation in osteopenic rats. *J Clin Invest* 2000; 105: 1595-604.
103. McGehee D, Alderberg M, Liu K-P, Hsuung S, Heath M, Tamir H. Mechanisms of extracellular Ca²⁺ + receptor-stimulated hormone release from sheep thyroid parafollicular cells. *J Physiol* 1997; 502: 31-44.
104. Romoli R, Lania A, Montovani G, Corbetta S, Persani L, Spada A. Expression of calcium-sensing receptor and characterization of intracellular signalling in human pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 2848-53.
105. Emanuel R, Adler G, Kifor O, Quinn S, Fuller F, Krapcho K, Brown E. Calcium-sensing receptor expression and regulation by extracellular calcium in the AtT-20 pituitary cell line. *Mol Endocrinol* 1996; 10: 555-65.

106. Cheng I, Klingensmith M, Chattopadhyay N, Kifor O, Butters R, Soybel D, et al. Identification and localization of the extracellular calcium-sensing receptor in human breast. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 703-7.
107. Cheng I, Qureshi I, Chattopadhyay N, Qureshi A, Butters R, Hall A, et al. Expression of an extracellular calcium-sensing receptor in rat stomach. *Gastroenterology* 1999; 116: 118-26.
108. Neil L, Hobson S, Nipper V, Rodland K. Functional calcium-sensing receptor expression in ovarian surface epithelial cells. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 305-13.
109. Bruce J, Yang X, Ferguson C, Elliott A, Steward M, Marynard Case R, Riccardi D. Molecular and functional identification of a Ca²⁺ (polyvalent cation)-sensing receptor in rat pancreas. *J Biol Chem* 1999; 274: 20561-8.
110. Chattopadhyay N, Cheng I, Rogers K, Riccardi D, Hall A, Diaz R, et al. Identification and localization of extracellular Ca²⁺-sensing receptor in rat intestine. *Am J Physiol* 1998; 274: G122-G30.
111. Chattopadhyay N, Baum M, Bai M, Riccardi D, Hebert S, Harris W, Brown E. Ontogeny of the extracellular calcium-sensing receptor in rat kidney. *Am J Physiol* 1996; 271: F736-F43.
112. Riccardi D, Lee W, Lee K, Segre G, Brown E, Hebert S. Localization of the extracellular Ca²⁺-sensing receptor and PTH/PTHrP receptor in rat kidney. *Am J Physiol* 1996; 271: F951-F6.
113. Riccardi D. Cell surface, Ca²⁺(cation)-sensing receptor(s): One or many? *Cell Calcium* 1999; 26: 77-83.
114. Ruat M, Molliver M, Snowman A, Snyder S. Calcium sensing receptor: Molecular cloning in rat and localization to nerve terminals. *Proc Natl Acad Sci* 1995; 92: 3161-5.
115. Kato M, Doi R, Imamura M, Furutani M, Hosotani R, Shimada Y. Calcium-evoked insulin release from insulinoma cells is mediated via calcium-sensing receptor. *Surgery* 1997; 122: 1203-11.
116. Oda Y, Tu C, Chang W, Crumrine D, Kömüves L, Mauro T, Elias P, Bikle D. The calcium sensing receptor and its alternatively spliced form in keratinocyte differentiation. *J Biol Chem* 2000; 275: 1183-90.
117. Tu C, Oda Y, Bikle D. Effects of a calcium receptor activator on the cellular response to calcium in human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 340-5.
118. McNeill S, Hobson S, Nipper V, Rodland K. Functional calcium-sensing receptor in rat fibroblasts are required for activation of SRC kinase and mitogen-activated protein kinase in response to extracellular calcium. *J Biol Chem* 1998; 273: 1114-20.
119. Yamaguchi T, Olozak I, Chattopadhyay N, Butters R, Kifor O, Scadden D, et al. Expression of extracellular calcium (Ca²⁺)-sensing receptor in human peripheral blood monocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 246: 501-6.
120. Yamaguchi T, Chattopadhyay N, Kifor O, Brown E. Extracellular calcium (Ca²⁺)-sensing receptor in a murin bone marrow-derived stromal cell line (ST2): Potential mediator of the actions of Ca²⁺ on the function of ST2 cells. *Endocrinology* 1998; 139: 3561-8.
121. House M, Kohlmeier L, Chattopadhyay N, Kifor O, Yamaguchi T, Leboff M, et al. Expression of an extracellular calcium-sensing receptor in human and mouse bone marrow cells. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 1959-70.
122. Kameda T, Mano H, Yamada Y, Takai H, Amizuka N, Kobori M, et al. Calcium-sensing receptor in mature osteoclasts, which are bone resorbing cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 245: 419-22.
123. Kanatani M, Sugimoto T, Kanzawa M, Yano S, Chihara K. High extracellular calcium inhibits osteoclast-like cell formation by directly acting on the calcium-sensing receptor existing in osteoclast precursor cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 261: 144-8.
124. Canaff L, Petit J, Kisiel M, Watson P, Gascon-Barre M, Hendy G. Extracellular calcium-sensing receptor is expressed in rat hepatocytes: Coupling to intracellular calcium mobilization and stimulation of bile flow. *J Biol Chem* 2000; 275: 1074.
125. Hofer A, Curci S, Doble M, Brown E, Soybel D. Intercellular communication mediated by the extracellular calcium-sensing receptor. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 392-8.
126. Nemeth E, Fox J. Calcimimetic compounds: A direct approach to controlling plasma levels of parathyroid hormone in hyperparathyroidism. *TEM* 1999; 10: 66-71.
127. Spurney R, Pi M, Flannery P, Quarles D. Aluminum is a weak agonist for the calcium-sensing receptor. *Kidney Int* 1999; 55: 1750-8.
128. Handlogten M, Shiraishi N, Awata H, Huang C, Miller R. Extracellular Ca²⁺-sensing receptor is a promiscuous divalent cation sensor that responds to lead. *Am J Physiol* 2000; 279: F1083-F91.
129. Mihai R, Lai T, Schofield G, Farndon J. Thimerosal increases the responsiveness of the calcium receptor in human parathyroid and rMTC6-23 cells. *Cell Calcium* 1999; 26: 95-101.

Date de soumission : mai 2001 Date d'acceptation : novembre 2001