

РОЛЬ КАЛЬЦИЙ-ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО РЕЦЕПТОРА В ПОДДЕРЖАНИИ СИСТЕМЫ КАЛЬЦИЕВОГО ГОМЕОСТАЗА

МИРНАЯ С.С.¹, ПИГАРОВА Е.А.², БЕЛЯЕВА А.В.³, МОКРЫШЕВА Н.Г.⁴, ТЮЛЬПАКОВ А.Н.⁵, РОЖИНСКАЯ Л.Я.⁶

¹ аспирант отделения нейроэндокринологии и остеопатий ФГУ ЭНЦ Минздравообразования

² к.м.н., научный сотрудник отделения нейроэндокринологии и остеопатий ФГУ ЭНЦ Минздравообразования

³ аспирант отделения нейроэндокринологии и остеопатий ФГУ ЭНЦ Минздравообразования

⁴ к.м.н., ведущий научный сотрудник отделения нейроэндокринологии и остеопатий ФГУ ЭНЦ Минздравообразования

⁵ д.м.н. зав. отделением наследственных эндокринопатий ФГУ ЭНЦ Минздравообразования

⁶ д.м.н., профессор, зав. отделением нейроэндокринологии и остеопатий ФГУ ЭНЦ Минздравообразования

Федеральное государственное учреждение Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий (директор – академик РАН и РАМН Дедов И.И.), Москва

Кальций-чувствительный рецептор (КЧР), относящийся к семейству рецепторов, сопряженных с G-белком, имеет большое значение для метаболических процессов, играя ключевую роль в регуляции кальциевого гомеостаза. Он широко экспрессируется в различных тканях организма, обеспечивая постоянную концентрацию ионизированного кальция в плазме. В дополнение к своей основной роли, он регулирует важные клеточные функции, такие как защиту от апоптоза и клеточную пролиферацию. КЧР является мишенью для различных медикаментов, разработанных для модификации функции околощитовидных желез и терапии метаболических остеопатий. Активирующие и инактивирующие мутации в гене КЧР вызывают изменения гомеостаза кальция. Помимо мутаций, приводящих к выраженным нарушениям функции рецептора и ассоциированным с патологическими состояниями, известен ряд полиморфных вариантов гена КЧР, встречающихся у здоровых людей.

Ключевые слова: кальциевый гомеостаз, кальций-чувствительный рецептор, кальцимиметики



ВВЕДЕНИЕ

Как известно, ионизированный кальций играет важную роль в жизнедеятельности организма. Помимо формирования костной ткани, участия в свертывающей системе крови, ион кальция служит посредником множества клеточных реакций,

в том числе⁹

Изменение концентрации ионов кальция в специализированных клетках приводит к множеству биологических эффектов на уровне органов и тканей [1, 10].

Выявлено два типа передачи сигнала при посредстве ионов кальция. Первый из них осуществляется в электровозбудимых тканях, преимущественно в нервных клетках. В них деполаризация плазматической мембраны вызывает поглощение нервным окончанием кальция через потенциалзависимые кальциевые каналы, что приводит к секреции нейромедиатора.

Второй способ передачи сигнала при посредстве ионов кальция осуществляется практически во всех типах клеток. При этом сигнальная молекула связывается с рецептором на поверхности клетки, что приводит к синтезу вторичных посредников, высвобождению ионов кальция из внутриклеточных депо, активации эффекторных ферментов и запуску кальций-опосредованных внутриклеточных реакций.

Важная роль в обеспечении функционирования организма обуславливает высокую чувствительность к концентрации ионов кальция в сыворотке крови, и приведение к действию компенсаторных механизмов происходит уже при ее изменении на 1%.

Постоянство концентрации ионов кальция в сыворотке крови поддерживается функциональной системой, которую можно назвать кальциевым гомеостатом. После открытия в 1993 г. кальций-чувствительного рецептора (КЧР) и заболеваний, вызванных мутациями в нем, ключевая роль КЧР в поддержании системы кальциевого гомеостаза не вызывает сомнений.

В настоящее время известно, что изменение концентрации внеклеточного кальция, вызывающее различные физиологические эффекты в различных тканях, реализуется через действие КЧР.

Строение кальций-чувствительного рецептора

КЧР был впервые выделен в лаборатории Brown and Hebert в 1993 г. из околощитовидной железы крупного рогатого скота. До 1993 г. основная роль в поддержании кальциевого обмена отводилась таким гормонам, как паратиреоидный гормон (ПТГ, 1,25-дигидроксивитамин Д, кальцитонин. Основной молекулярный механизм этой регуляции стал понятен только после открытия КЧР [36].

КЧР - это поверхностный клеточный белок, состоящий из 1078 аминокислот. Ген, кодирующий КЧР, находится на 3q21.1 хромосоме [41]. КЧР относится к классу С суперсемейства 3 G-белков-сопряженных рецепторов (G-ПСР).

Для рецептора G-ПСР класса С характерен большой N-терминальный внеклеточный домен, связанный с типичным трансмембранным участком. Лиганд-связывающие участки расположены на внеклеточном и трансмембранном доменах. Области, связывающие кальций, состоят из отрицательно заряженных аминокислотных остатков. Ключевыми аминокислотными остатками внеклеточного домена для максимальной реакции на внеклеточный кальций являются три остатка серина и один пролина (S-147, S-169, S-170, proline-823) [15]. При отсутствии внеклеточного домена активация рецептора ионами кальция значительно снижается, что подтверждает важную роль внеклеточного участка в связывании поливалентных катионов. Помимо ионизированного кальция рецептор возбуждается и другими ди- и поливалентными катионами: магнием (Mg^{2+}), полиаминами, а также ответ зависит от силы ионного напряжения (концентрации NaCl), pH и концентрации L-аминокислот. Внутриклеточные сигнальные пути, с которыми КЧР связан через G-белки, включают фосфолипазу С, протеин-киназу В и митоген-активированные протеин-киназы. КЧР экспрессируется в различных тканях, включая ткань ОЩЖ, почек, костей, кишечника, молочной железы, гладкомышечных клетках аорты, в адипоцитах, овоцитах и плаценте.

Функции кальций-чувствительного рецептора

Процессы, поддерживающие концентрацию кальция, включают два основных механизма – прямой, путем регуляции выведения кальция и воды, и непрямой, путем

изменения секреции ПТГ (см. рисунок 1) [2]. В обоих процессах КЧР играет важную роль кальциостата, способного в зависимости от уровня ионизированного кальция как стимулировать, так и угнетать работу нижестоящей эффекторной системы. Эксперименты с мышами линий с выключенными генами ПТГ и/или КЧР показали, что наличие именно КЧР необходимо для поддержания нормального уровня сывороточного кальция независимо от ПТГ [17,21]. Таким образом, уровень сывороточного кальция и сам управляет своей концентрацией, выступая в определенном смысле в роли полноценного гормона.

Одной из основных функций КЧР считается модуляция синтеза и секреции ПТГ и контроль жизненного цикла клеток околощитовидных желез. Секреция ПТГ максимальна при низком уровне ионизированного кальция, повышение уровня кальция снижает секрецию ПТГ и замыкает первый круг отрицательной обратной связи. Повышение уровня ПТГ приводит к высвобождению кальция из костного депо, усилению реабсорбции кальция в почечных канальцах и стимулирует 1 α -гидроксилазу почек, в результате чего увеличивается выработка кальцитриола. Последний увеличивает всасывание кальция и фосфатов в кишечнике, а также подавляет выработку ПТГ и деление клеток околощитовидных желез. Таким образом, замыкается второй круг обратной связи в регуляции уровня кальциемии.

На рисунке 2 изображена типичная обратная связь между секрецией ПТГ и уровнем ионизированного кальция и прямая связь между уровнем экскреции кальция с мочой и уровнем кальция в плазме [2].

Важную функцию КЧР выполняет и в регуляции экскреции кальция почками. КЧР экспрессируется клетками всех отделов нефрона, реагируя на изменение внутрипротоковой и интерстициальной концентрации ионов кальция. В проксимальном извитом канальце активация КЧР, расположенного апикально, ионами кальция первичной мочи ингибирует экскрецию фосфатов независимо от ПТГ, который обладает обратным действием. В дистальном прямом канальце петли Генле активация КЧР, расположенного базолатерально, уменьшает реабсорбцию кальция и магния (а также натрия и воды). Возбуждение КЧР, расположенного на апикальной поверхности клеток собирательных трубочек, уменьшает чувствительность аквапорина-2 к АДГ и уменьшает реабсорбцию воды. Все указанные физиологические процессы направлены на регуляцию уровня кальциемии и защиту от появления высокой концентрации солей в канальцевой жидкости и моче и камнеобразования. Таким образом, ген КЧР является одним из основных кандидатов

для объяснения наследственной предрасположенности к нефролитиазу [46].

Помимо вышеуказанных механизмов, имеются косвенные данные о том, что быстрое восстановление уровня кальциемии в ответ на острую гипокальциемию (при введении ЭДТА), которое имеет место у тиропаратироидэктомированных, витамин D дефицитных, а также нефрэктомированных мышей, может осуществляться через КЧР остеоцитов [16, 25].

Помимо поддержания сывороточной концентрации кальция КЧР регулирует и многие локальные процессы, связанные с обменом кальция. КЧР регулирует выработку ПТГ-подобного пептида [5, 6], участвующего в пара- и аутокринной регуляции многих физиологических процессов: расслаблении сосудистой стенки, созревании и росте хондроцитов, ветвлении протоков молочной железы и транспорте кальция через фетоплацентарный барьер. Например, секреция ПТГ-подобного пептида в ответ на активацию КЧР изменяется в клетках трофобласта (повышается [22]) и в эпителии молочной железы (снижается [44]). Таким образом, контролируется адекватное поступление кальция плоду или грудному ребенку, необходимого для формирования и роста скелета.

Нарушение функции КЧР, имеющее место при некоторых злокачественных процессах (в частности костных метастазах рака молочной железы и простаты), является причиной неадекватной выработки ПТГ-подобного пептида и развития гиперкальциемии злокачественных состояний [6].

Интригующим и недостаточно изученным является вопрос о роли КЧР в клетках костной ткани. Известно, что КЧР экспрессируется остеобластами (а также хондроцитами), следовательно, может регулировать костный обмен, от чего будут зависеть объем и минерализация кости. Выявлено, что высокая концентрация ионизированного кальция стимулирует дифференцировку остеобластов, формирование очагов минерализации [9], выделение щелочной фосфатазы, остеокальцина [49]. Данный эффект блокируется ингибитором КЧР NPS 89636 [9], введением антител к КЧР или доминантного подавляющего КЧР вектора [49] в культуру остеобластов. В эксперименте с совместной культурой остеобластов, остеокластов и клеток костного мозга в условиях недостатка кальция отмечалась RANKL-зависимая активация остеокластов. Добавление агонистов КЧР гадолиния и неомидина уменьшало экспрессию RANKL и пролиферацию остеокластов [39]. Это свидетельствует о том, что КЧР остеобластов может в обе стороны регулировать систему остеобласт/остеокласт [42]. Вместе с тем у мышей с инактивированным ге-

Рисунок 1
Движение кальция между тканями (показатели указаны за сутки для взрослого человека)

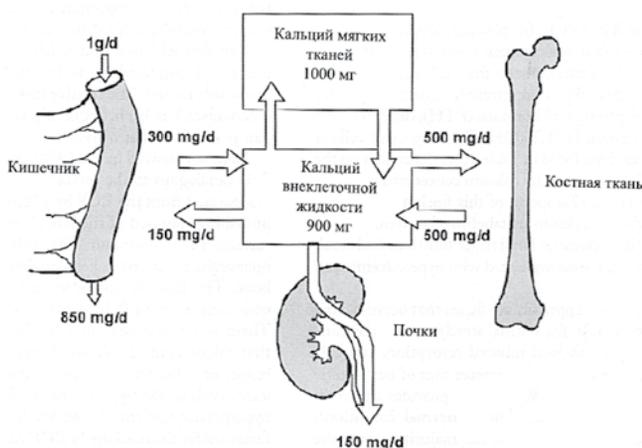
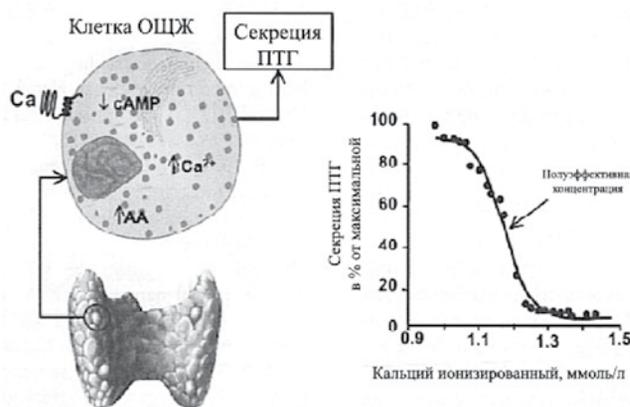


Рисунок 2
Отрицательная обратная связь между уровнем ионизированного кальция и секрецией паратиреоидного гормона (сАРМ-цАМФ)



ном КЧР не выявляется существенного поражения костной ткани, так же как и у людей с семейной доброкачественной гипокальциурической гиперкальциемией. Это свидетельствует о том, что КЧР не обладает определяющей ролью ни в хондрогенезе, ни в остеогенезе [14].

КЧР в дополнение к своей роли поддержания гомеостаза кальция в организме, регулирует важные клеточные функции, такие как защиту от апоптоза, клеточную пролиферацию, мембранное напряжение [40]. Эффект активации гена КЧР может быть как про-, так и антипролиферативным в зависимости от типа изучаемых клеток. Например, активация КЧР подавляет пролиферацию паратироцитов (*in vivo*), клеток крипт толстой кишки и кератиноцитов (*in vitro*), но стимулирует пролиферацию клеток остеобластического ряда, фибробластов (*in vitro*). Считается, что стимуляция пролиферации и защита от апоптоза, опосредованные КЧР, является одной из причин высокой устойчивости к химио- и лучевой терапии злокачественных опухолей, сопровождающихся гиперкальциемией злокачественных состояний [6].

Агонисты кальций-чувствительного рецептора

Как указывалось выше, КЧР может быть активирован ионами кальция, магния и некоторыми другими катионами. Они относятся к агонистам 1 типа, поскольку могут активировать рецептор напрямую и независимо. Активность КЧР также может зависеть от других веществ и условий, которые действуют через изменение так называемой «точки отсчета», полуэффективной концентрации лиганда (внеклеточных ионов кальция) и называются агонистами 2 типа. Полуэффективная концентрация – это концентрация, вызывающая ответ посередине между минимальным и максимальным значениями. Таким образом, агонистам 2 типа необходимо наличие внеклеточного кальция, и они являются аллостерическими модуляторами аффинности рецепторов к кальцию. К физиологическим агонистам 2 типа относятся полиамины, L-аминокислоты, уровень pH, ионная напряженность (в основном, изменение концентрации хлорида натрия) [20, 34, 35].

Рецепторы класса C суперсемейства 3 G-белков-сопряженных рецепторов, включая КЧР, формируют димеры (и полимеры), и это межмолекулярное взаимодействие определяет аллостерическую активацию рецепторов. Связывание агонистов 1 типа вызывает димеризацию КЧР с образованием дисульфидных мостиков внутри молекулы [3]. Хотя образование таких связей не является необходимым для димеризации, они могут менять чувствительность КЧР к иону кальция. Димеризация КЧР запускает клеточные сигналы, обеспечивая «суперагонизм» [37]. Скорее всего, именно эта димеризация обуславливает действие агонистов 2 типа и чувствительность рецептора к малейшим изменениям уровня ионизированного кальция.

Изменения в гене кальций-чувствительного рецептора

Интерес к роли КЧР в поддержании ионного гомеостаза был вызван изучением наследственных гипер- и гипокальциемических заболеваний, вызванных мутациями в гене КЧР. Исследования *in vitro* показали, что мутации вызывают изменения гомеостаза кальция из-за изменений полуэффективной концентрации лиганда, для кальций-обусловленного выделения ПТГ, и изменения почечного транспорта кальция.

Инактивирующие мутации в гене приводят к гиперкальциемии и таким заболеваниям как семейная доброкачественная гипокальциурическая гиперкальциемия (ФНН, FBH или FBHH), при наличии мутации в гетерозиготном положении, и тяжелой неонатальной первичный гиперпаратиреоз (NSHPT) [13, 29], при наличии обоих мутантных аллелей или доминантной негативной мутации. В первом слу-

чае заболевание протекает сравнительно доброкачественно и характеризуется бессимптомным повышением уровня сывороточного кальция и в меньшей степени, магния, относительной гипокальциурией и нормальным или слегка повышенным уровнем ПТГ. Относительная гипокальциурия связана с инактивацией КЧР также и в почечных канальцах и повышением реабсорбции кальция. Поэтому суммарная экскреция кальция оказывается ниже, чем у пациентов с первичным гиперпаратиреозом при одинаковом уровне кальциемии [48]. Возможно, этим объясняется отсутствие предрасположенности к нефролитиазу при семейной гипокальциурической гиперкальциемии. Костная ткань при этом заболевании остается сравнительно неповрежденной, при слегка повышенном уровне костных маркеров, минеральная плотность кости соответствует популяционному уровню и повышенной хрупкости не отмечается. Тяжелый неонатальный первичный гиперпаратиреоз дебютирует в раннем постнатальном периоде, проявляется гипотонией, респираторным дистресс-синдромом, резко выраженной гиперкальциемией, нарушением минерализации скелета и субperiостальной костной резорбцией.

Активирующие мутации в гене КЧР приводят к ауто-сомно-доминантной гипокальциемии с гиперкальциурией (ADHH) и 5 типу синдрома Бартера [26,41]. В первом случае заболевание проявляется гипопаратиреозом со значительной потерей кальция и магния почками, гипокальциемией, гипомagneмией, гиперфосфатемией. Уже в молодом возрасте появляются нефрокальциноз и почечная недостаточность, а также встречаются участки эктопической кальцификации. При синдроме Бартера 5 типа наряду с гипокальциемическим метаболическим алкалозом имеется потеря натрия почками и компенсаторные гиперренинемия и гиперальдестеронизм [8].

Последние исследования показали, что сходные по клинической картине заболевания, но с более поздними проявлениями, могут быть вызваны инактивирующими или активирующими аутоантителами к КЧР [4, 19, 30].

Помимо мутаций, приводящих к выраженным нарушениям функции рецептора и ассоциированных с патологическими состояниями, известен ряд полиморфных вариантов гена КЧР, встречающихся у здоровых людей и приводящих лишь к незначительному изменению функции белка. В 2002 г были опубликованы результаты исследования Vezzoli и соавторов, целью которого было определить влияние гаплотипов КЧР на риск нефролитиаза. Полученные данные свидетельствуют о том, что гаплотип rs1042636, связанный с R990G заменой в белке КЧР, в 13 раз повышает шанс иметь мочекаменную болезнь в популяции здоровых итальянцев [45], и, что было показано позже, среди пациентов с первичным гиперпаратиреозом [38, 49]. В дальнейшем эти данные подтвердили и другие работы [7]. В одном из последних крупных исследований показано, что полиморфизм гена КЧР (rs7652589 и rs1501899) ассоциирован с нормоцитратурическими кальциевым нефролитиазом [46]. В другом исследовании показано, что гаплотип rs1801725 T-аллель (A986S замена в молекуле КЧР) на 49% (p=0,002) увеличивает риск заболеть первичным гиперпаратиреозом [27]. В крупном исследовании Кариг с соавт., в котором анализировался генотип КЧР у 12 865 человек, показано, что уровень сывороточного кальция связан с полиморфизмом гена КЧР и соседних с ним участков [18]. Выявлено каждая аллель rs1801725 T (G2956T) приводит к повышению среднего уровня общего кальция в сыворотке на 0,01874 ммоль/л (референсные значения общего кальция 2,15-2,55 ммоль/л) и объясняет 1,26% дисперсии его уровня [18]. В этом же исследовании также изучалась связь аллелей, влияющих на уровень кальциемии (rs1801725 T-аллель и rs17251221 A-аллель), с развитием состояний, потенциально ассоциированных с кальциевым обменом: ишемической болезни сердца, инфаркта миокар-

да, артериальной гипертензии, инсульта, остеоартрита, остеопороза и нефролитиаза. Однако ни с одним из них, ни с различными показателями состояния костной ткани (МПК, толщина кортикального слоя, площадь кортикальной кости) достоверной связи выявлено не было [18]. Также и в некоторых других исследованиях [23, 33] не было выявлено значимой связи различных аллельных вариантов гена КЧР с уровнем кальциурии или кальциевым нефролитиазом. Противоречивые результаты, возможно, связаны с генетической стратификацией популяции или недостаточным объемом выборки. На российской популяции подобные исследования не проводились.

Кальцимитетики и кальциолитики

КЧР является мишенью для различных химических соединений, разработанных для модификации функции околотитовидных желез *in vivo*, открывая перспективы использования новых средств консервативного лечения ряда заболеваний костей и нарушений минерального обмена [11]. Были разработаны соединения как активирующего воздействия на КЧР – кальцимитетики, так и способствующие его инактивации – кальциолитики. Такие соединения являются агонистами или антагонистами КЧР 2 типа, следовательно, для их действия необходимы внеклеточные ионы кальция. Как указывалось ранее, при отсутствии внеклеточного домена активация рецептора ионами кальция значительно снижается. В отличие от этого, ответ на кальцимитетики сохраняется. Это свидетельствует, что агонисты 2 типа связываются с другим участком рецептора, нежели ионы кальция. Важным местом для связывания кальцимитетиков и КЧР является трансмембранный участок ТМ6-ТМ7. Кальциолитики связываются с перекрывающимся, но не с идентичным участком [32].

Аллостерические активаторы КЧР 2 типа оказались эффективными в терапии вторичного гиперпаратиреоза при хронической почечной недостаточности [40]. Типичным представителем кальцимитетиков является производное фенилалкиламов - цинакальцет гидрохлорид (сенсипар, мимпара). Он увеличивает чувствительность клеток ОЩЖ к внеклеточному кальцию, в результате чего блокируется выброс ПТГ. Некоторые исследования также показали, что активация КЧР дестабилизирует матричные рибонуклеиновые кислоты (РНК) ПТГ [24].

Эффекты активации рецептора включают в себя изменение регуляции клеточного цикла, что может иметь значение для понимания патогенеза гиперплазии ОЩЖ при вторичном гиперпаратиреозе на фоне хронической болезни почек. При гиперпаратиреозе значительно снижается экспрессия информационной РНК и белков КЧР [43, 47, 50]. Степень снижения экспрессии КЧР зависит от степени пролиферации клеток ОЩЖ: чем больше объем железы, тем меньше экспрессия рецептора. К настоящему времени появились работы об эффективности кальцимитетика при лечении и первичного гиперпаратиреоза [31]. Прием цинакальцета сопровождался снижением уровня ПТГ и кальциемии и даже уменьшению размера аденомы ОЩЖ у большинства пациентов, но не повышением МПК [31]. В настоящее время нишей для этого препарата является рецидивирующий или рефрактерный к оперативному лечению ПГПТ, особенно сопровождающийся высокой гиперкальциемией, а также случаи отказа от оперативного лечения. Кальциолитики позиционируются как препараты для лечения остеопороза и гипопаратиреоза, в том числе наследственного. Предполагается, что они стимулируют выброс ПТГ в анаболических дозах, не вызывая выраженной гиперкальциемии. Однако проведенные к настоящему времени испытания на крысах показали, что, несмотря на повышение уровня ПТГ и маркеров костного обмена, прироста МПК не происходит, вероятно, по причине слишком длительного периода полувыведения существующих препаратов, что не позволяет обеспе-

чить пульсовую стимуляцию выброса ПТГ [12, 28]. Также на кальциолитики возлагаются большие надежды, связанные с лечением костных метастазов в составе комплексной химио-лучевой терапии и гиперкальциемии злокачественных состояний, учитывая известное участие КЧР в управлении секреции ПТГ-подобного пептида [42].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, постоянство концентрации кальция обеспечивается постоянным движением ионов кальция между плазмой, почками, костной тканью и кишечником. Основная роль в поддержании системы кальциевого гомеостаза принадлежит кальций-чувствительному рецептору. Он обеспечивает регуляцию высвобождения кальция из костей через действие паратиреоидного гормона и изменение экскреции кальция с мочой, регулирует важные клеточные функции. Различные вещества, активирующие рецептор и таким образом модулирующие функцию околотитовидных желез, являются эффективными средствами медикаментозной терапии гиперпаратиреоза. Мутации в гене кальций-чувствительного рецептора приводят к развитию ряда гипер- и гипокальциемических заболеваний. Дальнейшее изучение кальций-чувствительного рецептора, исследование полиморфных вариантов его гена, позволят корректировать изменения в системе кальциевого гомеостаза, сопровождающие различные патологические состояния.

SUMMARY

Calcium-sensing receptor (CaSR), a member of G protein-coupled receptors family, plays a key role in systemic calcium homeostasis regulation. It is expressed in a variety of tissues, and is responsible for maintaining plasma calcium concentration. In addition, the CaSR is known to regulate some important cellular processes such as apoptosis and proliferation. CaSR is a drug target for calcimimetics and calcilytics, agents used for modification of parathyroid cells function and treatment of some pathologic conditions. Inactivating or activating mutations of the CaSR gene cause different disorders of calcium metabolism. Polymorphic variants of the gene have been described in healthy populations.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Фадеев В.В. Эндокринология.- М., 2000.
2. Alpern R J., Hebert S C., Seldin and Giebisch's The Kidney (Fourth Edition) Physiology and Pathophysiology. 2008. Elsevier Inc.
3. Bai M, Quinn S, Trivedi S, et al. Expression and characterization of inactivating and activating mutations in the human Ca²⁺-sensing receptor. *J Biol Chem.* 1996; 271(32):19537-45.
4. Charrié A, Chikh K, Peix JL, et al. Calcium-sensing receptor autoantibodies in primary hyperparathyroidism. *Clin Chim Acta.* 2009;406(1-2):94-7.
5. Chattopadhyay N. Biochemistry, physiology and pathophysiology of the extracellular calcium-sensing receptor. *Int J Biochem Cell Biol.* 2000;32(8):789-804.
6. Chattopadhyay N. Effects of calcium-sensing receptor on the secretion of parathyroid hormone-related peptide and its impact on humoral hypercalcemia of malignancy. *Am J Physiol Endocrinol Metab* – 2006 – 290 – pp.761-770.
7. Corbetta S, Eller-Vainicher C, Filopanti M, et al. R990G polymorphism of the calcium-sensing receptor and renal calcium excretion in patients with primary hyperparathyroidism. *European Journal of Endocrinology* (2006), 155, 687–692.
8. D'Souza-Li L. The calcium-sensing receptor and related diseases. *Arq Bras Endocrinol Metabol* (2006) 50: 628–639.
9. Dvorak MM, Siddiqua A, Ward DT, Carter DH, Dallas SL, Nemeth EF, Riccardi D. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101(14):5140–5145.

10. Fray JC, Lush DJ, Park CS. Interrelationship of blood flow, juxtaglomerular cells, and hypertension: role of physical equilibrium and Ca. *Am J Physiol*. 1986;251 (4 Pt 2):R643-62.
11. Goodman WG. Calcium-sensing receptors. *Semin Nephrol*. 2004 Jan;24(1):17-24.
12. Gowen M, Stroup GB, Dodds RA, et al. Antagonizing the parathyroid calcium receptor stimulates parathyroid hormone secretion and bone formation in osteopenic rats. *J Clin Invest*. 2000;105(11):1595-1604.
13. Hendy GN, D'Souza-Li L, Yang B, Canaff L, Cole DE. Mutations of the calcium-sensing receptor (CASR) in familial hypocalciuric hypercalcemia, neonatal severe hyperparathyroidism, and autosomal dominant hypocalcemia. *Hum Mutat*. 2000;16(4):281-96.
14. Houillier P, Paillard M. Calcium-sensing receptor and renal cation handling. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18(12):2467-70.
15. Hu J, McLarnon SJ, Mora S, Jiang J, et al. A region in the seven-transmembrane domain of the human Ca²⁺ receptor critical for response to Ca²⁺. *J Biol Chem*. 2005;280(6):5113-20.
16. Huan J, Martuseviciene G, Olgaard K, Lewin E. *Eur J Clin Invest*. Calcium-sensing receptor and recovery from hypocalcaemia in thyroparathyroidectomized rats. 2007 - 37(3) – pp. 214-221.
17. Kantham L, Quinn SJ, Egbuna OI et al. The calcium-sensing receptor (CaSR) defends against hypercalcemia independently of its regulation of parathyroid hormone secretion. *Am J Physiol Endocrinol Metab* - 2009;297(4) – pp. 915-23.
18. Kapur K, Johnson T, Beckmann ND, et al. Genome-Wide Meta-Analysis for Serum Calcium Identifies Significantly Associated SNPs near the Calcium-Sensing Receptor (CASR) Gene. *PLoS Genet*. - 2010 July - 6(7) - e1001035 - pp.1-12.
19. Kifor O, McElduff A, LeBoff MS, et al. Activating antibodies to the calcium-sensing receptor in two patients with autoimmune hypoparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(2):548-556.
20. Kobilka B. Allosteric activation of the CaR by L-amino acids. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000 vol.97, 9, 4419-4420.
21. Kos CH, Karaplis AC, Peng JB et al. The calcium-sensing receptor is required for normal calcium homeostasis independent of parathyroid hormone. *J Clin Invest*. - 2003;111(7) – pp.1021-8.
22. Kovacs CS. Calcium and bone metabolism during pregnancy and lactation. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 10: 105-118, 2005.
23. Lerolle N, Coulet F, Lantz B et al. No evidence for point mutations of the calcium-sensing receptor in familial idiopathic hypercalciuria. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 2317-2322.
24. Levi R, Ben-Dov IZ, Lavi-Moshayoff V, et al. Increased parathyroid hormone gene expression in secondary hyperparathyroidism of experimental uremia is reversed by calcimimetics: correlation with posttranslational modification of the trans acting factor AUF1. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17(1):107-12.
25. Lewin E, Wang W, Olgaard K. *Nephrol Dial Transplant*. Rapid recovery of plasma ionized calcium after acute induction of hypocalcaemia in parathyroidectomized and nephrectomized rats. 1999;14(3):604-609.
26. Lienhardt A, Bai M, Lagarde JP, et al. Activating mutations of the calcium-sensing receptor: management of hypocalcemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(11):5313-23.
27. Miedlich S, Lamesch P, Mueller A, Paschke R. Frequency of the calcium-sensing receptor variant A986S in patients with primary hyperparathyroidism. *Eur J Endocrinol*. 2001;145:421-427.
28. Nemeth EF. The search for calcium receptor antagonists (calcilytics). *J Mol Endocrinol*. 2002;29(1):15-21.
29. Obermannova B., Banghova K., Sumnik Z., et al. Unusually severe phenotype of neonatal primary hyperparathyroidism due to a heterozygous inactivating mutation in the CASR gene *Eur J Pediatr*. 2009; 168(5):569-73.
30. Pallais JC, Kifor O, Chen YB, Slovik D, Brown EM. Acquired hypocalciuric hypercalcemia due to autoantibodies against the calcium-sensing receptor. *N Engl J Med*. 2004;351(4):362-369.
31. Peacock M, Bilezikian JP, Klassen PS, Guo MD, Turner SA, Shoback D. Cinacalcet hydrochloride maintains long-term normocalcemia in patients with primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(1):135-141.
32. Petrel C, Kessler A, Dauban P, Dodd RH, Rognan D, Ruat M. Positive and negative allosteric modulators of the Ca²⁺-sensing receptor interact within overlapping but not identical binding sites in the transmembrane domain. *J Biol Chem*. 2004; 279(18):18990-7.
33. Petrucci M, Scott P, Ouimet D et al. Evaluation of the calcium-sensing receptor gene in idiopathic hypercalciuria and calcium nephrolithiasis. *Kidney Int* 2000; 58: 38-42.
34. Quinn SJ, Bai M, Brown EM. pH Sensing by the calcium-sensing receptor. *J Biol Chem*. 2004, 279(36):37241-9.
35. Quinn SJ, Kifor O, Trivedi S, Diaz R, Vassilev P, Brown E. Sodium and ionic strength sensing by the calcium receptor. *J Biol Chem*. 1998 Jul 31;273(31):19579-86.
36. Radu Mihai The calcium sensing receptor: from understanding parathyroid calcium homeostasis to bone metastases *Ann R Coll Surg Engl* 2008; 90: 271-277.
37. Schwartz TW, Holst B. Allosteric modulation and other types of allostery in dimeric 7TM receptors. *J Recept Signal Transduct Res*. 2006;26(1-2):107-28.
38. Scillitani A, Guarnieri V, Battista C, et al. Primary Hyperparathyroidism and the Presence of Kidney Stones Are Associated with Different Haplotypes of the Calcium-Sensing Receptor *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(1):277-283
39. Takeyama S, Yoshimura Y, Shirai Y, et al. Low calcium environment effects osteoprotegerin ligand/osteoclast differentiation factor. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;276(2):524-529.
40. Tfelt-Hansen J, Brown EM. The calcium-sensing receptor in normal physiology and pathophysiology: a review. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2005;42(1):35-70.
41. Thakker RV. Diseases associated with the extracellular calcium-sensing receptor. *Cell Calcium*. 2004 Mar;35(3):275-82.
- Theman TA, Collins MT. The Role of the Calcium-Sensing Receptor in Bone Biology and Pathophysiology. *Curr Pharm Biotechnol*. 2009 April; 10(3): 289-301.
42. Valimaki S, Farnebo F, Forsberg L, Larsson C, Farnebo LO. Heterogeneous expression of receptor mRNAs in parathyroid glands of secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int*. 2001 Nov;60(5):1666-75.
43. Vanhouten J, Dann P, McGeoch G, et al. The calcium-sensing receptor regulates mammary gland parathyroid hormone-related protein production and calcium transport. *J Clin Invest* 113: 598-608, 2004.
44. Vezzoli G, Tanini A, Ferrucci L, et al. Influence of calcium-sensing receptor gene on urinary calcium excretion in stone-forming patients. *J Am Soc Nephrol*. 2002; 13(10):2517-23.
45. Vezzoli G, Terranegra A, Arcidiacono T, et al. Calcium kidney stones are associated with a haplotype of the calcium-sensing receptor gene regulatory region. *Nephrol Dial Transplant*. - 2010;25(7) – pp. 2245-52.
46. Wang NN, Wang XY, Peng T, et al. Expression of the calcium receptor CaR in the parathyroid of secondary hyperparathyroidism patients. *Chin Med J (Engl)*. 2004;117(9):1408-10.
47. Watanabe H, Sutton RA. Renal calcium handling in familial hypocalciuric hypercalcemia. *Kidney Int*. 1983;24(3):353-7.
48. Yamauchi M, Sugimoto T, Yamaguchi T, Yano S, Kanzawa M, et al. Association of polymorphic alleles of the calcium-sensing receptor gene with the clinical severity of primary hyperparathyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001;55:373-379.
49. 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(5):198