

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI

**CINACALCET İLE KALSİYUMA DUYARLI  
RESEPTÖR UYARILMASININ BÖBREK VE  
KEMİK HİSTOMORFOMETRİSİ ÜZERİNE  
ETKİSİ**

Dr. İhsan ESEN

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2009

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI

**CINACALCET İLE KALSİYUMA DUYARLI  
RESEPTÖR UYARILMASININ BÖBREK VE  
KEMİK HİSTOMORFOMETRİSİ ÜZERİNE  
ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. İhsan ESEN

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Mehmet Atilla TÜRKMEN

Bu araştırma DEÜ Araştırma Fon Saymanlığı tarafından 2008 KB Sağ.12 sayı ile desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İçindekiler	i
Tablo Dizini	iii
Şekil Dizini	iv
Kısaltmalar	v
Teşekkür	vi
Özet	1
Özet (İngilizce)	3
1.0 Giriş ve amaç	5
2.0 Genel Bilgiler	6
2.1 Kalsiyum metabolizması	6
2.1.1 Kalsiyum	6
2.1.1 D vitamini	8
2.1.2 Paratiroid hormon	10
2.1.3 Kalsitonin	11
2.1.4 Kalsiyum emiliminin fizyolojisi	12
2.1.4.1 Gastrointestinal sistemden kalsiyum emilimi	12
2.1.4.2 Böbrekten kalsiyum geri emilimi	12
2.2 Kalsiyum duyarlı reseptör	15
2.3 İdiyopatik hiperkalsiüri	19
2.3.1 İdiyopatik hiperkalsiüride D vitaminin rolü	19
2.3.2 İdiyopatik hiperkalsiüri ve osteoporoz ilişkisi	21
2.3.3 İdiyopatik hiperkalsiüriye yaklaşım ve yönetimi	24
2.4 Kalsiyum duyarlı reseptör ve böbrek	25
2.4.1 Kalsiyum duyarlı reseptör ve mezangial hücre çoğalması	25
2.4.2 Kalsiyum duyarlı reseptör ve idiyopatik hiperkalsiüri	26
2.5 Kalsiyum duyarlı reseptör ve kemik	27
2.6 Kalsiyum duyarlı reseptör ve ilişkili hastalıklar	29
2.7 Kalsimimetikler ve kalsilitikler	31
2.7.1 Kalsimimetikler	31
2.7.1 Kalsilitikler	31

2.8 Kalsimimetiklerin klinikte kullanımları	33
3.0 Gereç ve yöntem	37
3.1 Deney hayvanları	37
3.2 Deney hayvanı grupları	37
3.3 Cinacalcet HCl	37
3.4 Orogastrik gavaj ile cinacalcet HCl veya distile su uygulaması	37
3.5 Çalışma planı	37
3.6 İdrar ve kan örneklerinin alınması	38
3.7 Doku örneklerinin alınması	38
3.8 İdrar analizleri	39
3.9 Serum analizleri	39
3.10 Histolojik inceleme	39
3.11 İstatistik analiz	40
4.0 Bulgular	42
4.1 Cinacalcet'in ağırlık artışı üzerine etkisi	42
4.2 Cinacalcet'in böbrek fonksiyonları üzerine etkisi	42
4.2.1 Serum biyokimyasal analiz sonuçları	42
4.2.2 İdrar biyokimyasal analiz sonuçları	43
4.3 Cinacalcet'in böbrek mezangial hücre çoğalması üzerine etkisi	45
4.4 Cinacalcet'in kemik histomorfometri üzerine etkisi	48
5.0 Tartışma	52
6.0 Sonuç ve öneriler	63
7.0 Kaynaklar	65
8.0 Ekler	75
8.1 Ek 1: Etik kurul raporu	75

**TABLO DİZİNİ****Sayfa**

Tablo 1: CaR'ın doku dağılımı ve varsayılan fonksiyonları	17
Tablo 2: CaR agonist ve antagonistleri	32
Tablo 3: Kalsiyum reseptör modölatörlerinin potansiyel tıbbi kullanım alanları	36
Tablo 4: Cinacalcet 'in ağırlık artışı üzerine etkisi	42
Tablo 5: Çalışma ve kontrol grubu serum biyokimyasal değerlerinin karşılaştırılması	43
Tablo 6: Çalışma ve kontrol grubunun idrar hacmi ve biyokimyasal değerlerinin karşılaştırılması	44
Tablo 7: Böbrek mezangial hücre sayısı (MHS)	45
Tablo 8: Kemik histomorfometri bulgularının karşılaştırılması	49

<b>ŞEKİL DİZİNİ</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 1: Vücudun değişik bölümlerinde kalsiyum dağılımı	7
Şekil 2: Çeşitli doku bölümleri arasında kalsiyum değişimi	8
Şekil 3: Kalsiyum metabolizmasında rol oynayan hormonlar	9
Şekil 4: Nefronda kalsiyum geri emiliminin gerçekleştiği kısımlar	13
Şekil 5: Epitelyal kalsiyum kanalı (ECaC) aracılığı ile kalsiyum transportu	14
Şekil 6: Henle kulpunun çıkan kalın kolunda kalsiyum emilimi	15
Şekil 7: Kalsiyum duyarlı reseptör'ün şematik diagramı	16
Şekil 8: CaR aktive edici, inaktive edici mutasyonlar ve “single nucleotide polymorphisms”	27
Şekil 9: Oragastrik gavaş uygulaması	38
Şekil 10: Kemik dokusunda histolojik incelemelerin yapıldığı alanlar	40
Şekil 11: Cinacalcet'in serum iyonize kalsiyum, total kalsiyum, PTH üzerine etkisi	43
Şekil 12: İdrar kalsiyum atılımı ve idrar hacmi ilişkisi	45
Şekil 13: Böbrek dokusunda glomerüler mezangial hücre sayısının değerlendirildiği böbrek kesitlerinden örnekler	46
Şekil 14: Böbrek dokusunda ekstraglomerüler mezangial hücre sayısının değerlendirildiği böbrek kesitlerinden örnekler	47
Şekil 15: Böbrek dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonunun izlendiği kesitlerden örnekler	48
Şekil 16: Çalışma grubundan kemik histolojisinin değerlendirildiği kesitlerden örnekler	49
Şekil 17: Kontrol grubundan kemik histolojisinin değerlendirildiği kesitlerden örnekler	50
Şekil 18: Büyüme kıkırdağı yüksekliği ölçümlerinin yapıldığı kesitler	51

## **KISALTMALAR**

BMD	Kemik mineral dansitesi
Ca	Kalsiyum
CaR	Kalsiyum duyarlı reseptör
Cl	Klor
ECaC	Epiteliyal kalsiyum kanalı
GHS	Genetik hiperkalsiürik sıçan
HKÇK	Henle kulpunun çıkan kolu
K	Potasyum
Mg	Magnezyum
Na	Sodyum
PTH	Paratiroid hormon
VDR	Vitamin D reseptörü

## **TEŞEKKÜR**

Tez konusu seğimi ve ęalıřmalarımın yürütülmesinde değerli katkı ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mehmet A. Türkmen'e, uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini aktararak yetişmemde büyük emeği olan ocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine, eğitimim boyunca birlikte olduğum tüm ęalıřma arkadaşlarıma ve aileme sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Dr. İhsan Esen



## ÖZET

### CİNACALCET İLE KALSİYUMA DUYARLI RESEPTÖR UYARILMASININ BÖBREK VE KEMİK HİSTOMORFOMETRİSİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. İhsan ESEN

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı  
Balçova /İZMİR

**Amaç:** Cinacalcet ile kalsiyum duyarlı reseptör uyarılmasının böbrek tübül fonksiyonları, mezangial hücre çoğalması ön planda olmak üzere böbrek histolojisi ve kemik histomorfometri üzerine etkisini araştırmak.

**Yöntem:** Çalışmaya ağırlıkları 120-130 gr arasında olan yedişer adet 6 haftalık dişi Sprague-Dawley ırkı sıçandan oluşan iki grup alındı. Çalışma grubuna 21 gün oral gavaj ile 25 mg/kg/gün cinacalcet diğer gruba ise aynı yöntem ile distile su uygulandı. Çalışma sonunda böbrek tübül fonksiyonları idrar ve serum biyokimyasal analizleri ile değerlendirildi. Böbrek ve kemiğe ait histolojik incelemeler ışık mikroskobu ile yapıldı. Glomerüler mezangial hücre sayısı böbrek dokusundan elde edilen 0,7 µm kalınlığındaki kesitlerde ve ekstraglomerüler mezangial hücre sayısı afferent ve efferent arteriollerinden geçen 5 µm'lik kesitlerde mezangial hücreler sayılarak saptandı. Elde edilen 5 µm'lik kemik dokusu kesitlerinden elde edilen digital görüntüler, histomorfometrik olarak büyüme kırırdağının kalınlığı, kortikal kemik kalınlığı, osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, trabeküler kemik hacmi ve osteoid kemik hacmi ölçümleri için kullanıldı.

**Bulgular:** Çalışma bitiminde sıçanların 100 gr vücut ağırlığı başına ağırlık artışları çalışma ve kontrol gruplarında benzer olduğu gözlemlendi ( $p>0,05$ ). Cinacalcet verilen sıçanlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum iyonize kalsiyum ( $0,86\pm 0,08$  ve  $1,22\pm 0,15$  mmol/l,  $p=0,001$ ), total kalsiyum ( $9,17\pm 0,61$  ve  $11,30\pm 0,46$  mg/dl,  $p=0,001$ ) ve PTH düzeylerinin ( $14,6\pm 7,5$  ve  $64,9\pm 31,4$  pg/ml,  $p=0,001$ ) daha düşük olduğu saptandı. Serum fosfor, sodyum, potasyum, kan üre azotu, kreatinin, magnezyum, total protein ve 25-OH vitamin D düzeyleri arasında fark saptanmadı ( $p>0,05$ ).

Cinacalcet verilen sıçanların 24 saatlik idrar hacimleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha fazla olduğu gözlemlendi ( $65,6\pm 18,9$  ve  $31,7\pm 9,1$  ml/kg/gün,  $p=0,001$ ). Gruplar arasında Tmp/GFR değerleri çalışma grubunda daha yüksek olmakla beraber anlamlı

fark saptanmadı ( $p>0,05$ ). Cinacalcet verilen sıçanların 24 saatlik idrar analizinde kalsiyum atılımında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ortalama kalsiyum atılımında %50'lik bir artış olmasına rağmen anlamlı fark saptanmadı ( $p>0,05$ ). İdrar kalsiyum atılımı ve idrar hacimleri arasında pozitif ilişki saptandı ( $r^2= 0,399$ ,  $p=0,001$ ). İdrar ile atılan kalsiyumun serum kalsiyumuna oranı çalışma grubunda kontrol grubuna göre yüksek olarak bulundu ( $8,73\pm5,25$  ve  $4,64\pm2,84$   $p=0,006$ ). Çalışma grubunda kontrol grubuna göre fraksiyonel sodyum ( $1,82\pm0,42$  ve  $1,28\pm0,35$   $p=0,026$ ) ve fraksiyonel klor atılımının ( $3,22\pm0,87$  ve  $2,27\pm0,43$   $p=0,053$ ) artmış olduğu saptandı. Magnezyum atılımı ve proteinüri açısından fark saptanmadı ( $p>0,05$ ).

Çalışma grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ortalama glomerüler mezangial hücre sayısının ( $7,42\pm0,32$  ve  $4,87\pm0,34$   $p=0,001$ ) ve ekstraglomerüler mezangial hücre sayısının ( $4,28\pm0,94$  ve  $2,15\pm0,58$   $p=0,001$ ) çalışma grubunda artmış olduğu bulundu. Çalışma grubundaki 4 kontrol grubunda 1 sıçan'ın böbrek kesitlerinde mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değil idi ( $p>0,05$ ).

Büyüme plağı kalınlığı ve kortikal kemik kalınlığı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında cinacalcet ile tedavi edilen sıçanlarda artmış olduğu saptandı (sırasıyla  $209,61\pm3,63$  ve  $200,64\pm6,58$   $\mu\text{m}$ ,  $p<0,001$ ,  $105,05\pm10,69$  ve  $81,87\pm11,04$   $\mu\text{m}$ ,  $p<0,001$ ). Cinacalcet ile tedavi edilen sıçanlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında trabeküler kemik hacmi ( $\%19,75\pm2,68$  ve  $\%23,36\pm5,79$   $p=0,007$ ), osteoblast sayısı ( $4,16\pm0,34$  ve  $5,47\pm0,19$   $p<0,001$ ) ve osteoklast sayısının ( $0,35\pm0,12$  ve  $0,60\pm0,13$   $p<0,001$ ) azalmış olduğu saptandı. Osteoid hacmi sayısal olarak çalışma grubunda daha düşük olduğu saptanmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak sınırda anlamlı bulundu ( $0,66\pm0,41$  ve  $1,18\pm0,90$   $p=0,056$ ).

**Sonuç:** Sağlıklı sıçanlarda cinacalcet ile CaR uyarılması paratiroid bezi etkileyerek düşük PTH düzeylerine yol açarken böbrek mezangial hücrelerinde çoğalmaya kemikte düşük döngülü kemik hastalığı ile uyumlu histomorfometrik değişikliklere neden olmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Cinacalcet, mezangial hücre çoğalması, kemik histomorfometrisi

## SUMMARY

### THE EFFECT OF STIMULATION OF CALCIUM SENSING RECEPTORS VIA CINACALCET ON RENAL AND BONE HISTOMORPHOMETRY

Dr. İhsan Esen

Dokuz Eylül University School of Medicine, Department of Pediatrics

Balçova /İzmir

**Aim:** To evaluate the effect of stimulation of calcium sensing receptors via cinacalcet on renal tubular functions, renal histology in terms of particularly mesangial cell proliferation and bone histomorphometry.

**Methods:** Two groups, each including seven female, 6-week-old Sprague-Dawley rats with a mean body weight of 120-130gr were included into the study. The first group received cinacalcet (25mg/kg) by p.o. gavage and the control group received distilled water by the same method for 21 days. At the end of the study, renal tubular functions were evaluated by serum and urine biochemical analyses. Renal and bone histological investigations were performed via light microscopy. Glomerular mesangial cell numbers were determined by counting total mesangial cell numbers in five renal sections of 0.7  $\mu$ m. Extraglomerular mesangial cells were evaluated in approximately ten sections with a thickness of 5  $\mu$ m crossing both afferent and efferent arterioles. Histomorphometric analyses of bone were performed by using image analysis system. Histomorphometric analysis parameters were growth plate thickness, cortical thickness, osteoid volume, trabecular bone volume, osteoblast and osteoclast number per 1mm of osteoid surface. Glomerular and extraglomerular mesangial cell numbers, histomorphometric bone analyses were compared between the two groups.

**Results:** At the end of study, body weight gains per 100 g body weights were similar between the two groups ( $p>0.05$ ). Serum ionized calcium ( $0.86\pm 0.08$  vs.  $1.22\pm 0.15$  mmol/L), total calcium ( $9.17\pm 0.61$  vs.  $11.30\pm 0.46$  mg/dL) and paratiroid hormone ( $14.6\pm 7.5$  vs.  $64.9\pm 31.4$  pg/mL) levels were statistically lower in rats receiving cinacalcet ( $p=0.001$  for each). However, no statistically significant difference was determined in the levels of serum phosphorus, sodium, potassium, blood urea nitrogen, creatinine, magnesium, total protein and

25-OH vitamin D levels between the two groups ( $p>0.05$ ). Daily urine volumes of the rats under cinacalcet treatment were significantly higher than the control group ( $65.6\pm 18.9$  vs.  $31.7\pm 9.1$  mL/kg/day,  $p=0.001$ ). Although Tmp/GFR and daily calcium excretion levels of the rats in the study group were higher when compared with the control group, the differences were not statistically significant ( $p>0.05$ ). However, daily calcium excretion/serum calcium ratio in study group were higher when compared with control group ( $8.73\pm 5.25$  vs.  $4.64\pm 2.84$   $p=0,006$ ). There was a linear correlation between the daily urine volume and calcium excretion levels ( $r^2= 0.399$ ,  $p=0.001$ ). The comparison of fractional sodium and chloride excretion between the two groups revealed increase in favour of the study group (respectively  $1.82\pm 0.42$  vs.  $1.28\pm 0.35$ ,  $p = 0.026$  and  $3.22\pm 0.87$  vs.  $2.27\pm 0.43$ ,  $p = 0.053$ ), while urinary excretion of magnesium, phosphorus and protein levels were similar between the two groups ( $p>0.05$ ).

There was a significant increase in renal glomerular ( $7.42\pm 0.32$  vs.  $4.87\pm 0.34$ ,  $p=0.001$ ) and ekstraglomerular ( $4.28\pm 0.94$  vs.  $2.15\pm 0.58$   $p=0.001$ ) mesangial cell counts in the study group . Mononuclear cell infiltration was demonstrated in renal sections of 4 rats in study group and 1 rat in control group. Nevertheless, this difference was not statistically significant ( $p>0.05$ ). When histomorphometric parameters were evaluated, a significant increase was demonstrated in total growth plate thickness ( $209.61\pm 3.63$  vs.  $200.64\pm 6.58$   $\mu\text{m}$ ,  $p<0.001$ ) and cortical thickness ( $105.05\pm 10.69$  vs.  $81.87\pm 11.04$   $\mu\text{m}$ ,  $p<0.001$ ) in the study group. Trabecular bone volumes ( $19.75\pm 2.68$  vs.  $23.36\pm 5.79$ ,  $p=0.007$ ), osteoblast ( $4.16\pm 0.34$  vs.  $5.47\pm 0.19$ ,  $p<0.001$ ) and osteoclast ( $0.35\pm 0.12$  ve  $0.60\pm 0.13$ ,  $p<0.001$ ) counts were significantly lower in the study group . However, there was no significant difference in osteoid volume between the two groups ( $0.66\pm 0.41$  vs.  $1.18\pm 0.90\%$ ,  $p=0,056$ ).

**Conclusion:** Calcium sensing receptor stimulation via cinacalcet in healthy rats resulted in a decrease in PTH levels upon induction of parathyroid glands, proliferation of renal mesangial cells and bone histomorphometric changes compatible with low turnover bone disease.

**Keywords:** Mesangial cell proliferation, cinacalcet, bone histomorphometry

## **1.0 GİRİŞ ve AMAC**

İdiyopatik hiperkalsiüri tekrarlayan böbrek taş hastalığı olan hastalarda eş zamanlı hiperkalsemi olmaksızın artmış idrar kalsiyum atılımını tanımlamak için kullanılmaktadır.<sup>1</sup> İdiyopatik hiperkalsiüri kalsiyum taşı olan hastalarda en sık gözlenen metabolik anormalliktir ve genel popülasyonda sıklığı %5–10 oranında bildirilmektedir.<sup>2 3</sup> Kalsiyum duyarlı reseptör (CaR) paratiroid hormon (PTH) sekresyonu ve böbreklerden kalsiyum atılımını düzenleyen sistemin temel öğelerinden biridir. Kalsiyum duyarlı reseptörü kodlayan genlerindeki aktivasyon ve inaktivasyon mutasyonları yanı sıra kalsimimetik ve kalsilitik ajanlar reseptör fonksiyonlarını değiştirirler. Arg990Gly polimorfizminin CaR aktivasyonunu artırıp idiyopatik hiperkalsiüriyi neden olabileceği böylece CaR geninin kalsiyum ekskresyonunun düzenlenmesinin temelindeki karmaşık genetik yapının bir parçası olabileceği ileri sürülmüştür.<sup>4</sup>

Mezangial hücreler yüzey alanını ve/veya glomerüler kan akımını değiştirerek glomerüler filtrasyon oranının düzenlenmesinde rol oynarlar. Bundan dolayı mezangial hücre çoğalması glomerüler hasarda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. İn vitro olarak CaR'ün uyarılması ile mezangial hücre çoğalmasına neden olduğu gösterilmiştir.<sup>5</sup>

Kalsimimetik bileşikler üremik hiperparatiroidizmlili erişkin hastalarda plazma PTH düzeyini ve kalsiyum fosfat oluşumunu etkili bir şekilde azaltmakta ve klinik sonuçları üzerine iyileştirici etkileri gösterilmiştir.<sup>6 7</sup> Büyüyen çocuklarda hiperparatiroidizminin yetersiz kontrolü kemik deformatelerine ve epifizyal kayma gibi kötü sonuçlar doğurabilir. Bununla birlikte kalsiyum duyarlı reseptör'ün kemik hücre regülasyonu üzerine etkileri net olarak bilinmemektedir; CaR agonistlerinin osteoklastlar üzerine potansiyel inhibitör etkiye ve CaR antagonistlerinin osteoblastlar üzerine potansiyel sitümülatör etkileri olduğu düşünülmektedir.<sup>8 9</sup>

Bu deneysel çalışma ile amacımız kalsiyum duyarlı reseptör agonisti (Cinacalcet HCl) kullanılarak sağlıklı sıçanlarda CaR uyarılmasının;

1. Böbrek tübül fonksiyonları,
2. Mezangial hücre çoğalması ön planda olmak üzere böbrek histolojisi,
3. Kemik histolojisi üzerine etkileri araştırılacaktır.
4. Yukarıda elde edilen verilerle yeni tedavi yaklaşımlarının denenebileceği hayvan modeli oluşturmada bu yöntemin kullanılabilirliğini araştırmaktır.

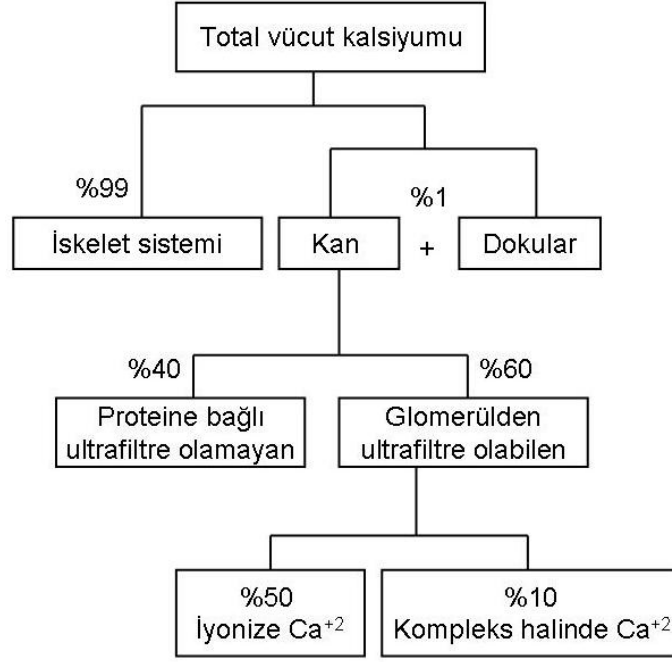
## **2.0 GENEL BİLGİLER**

### **2.1 Kalsiyum Metabolizması**

#### **2.1.1 Kalsiyum**

Vücutta bulunan kalsiyumun yüzde doksan dokuzu iskelette bulunur, kalan %1'i hücre dışı sıvılar, hücre içi bölmeler ve hücre membranlarındadır. Plazmada yer alan kalsiyumun %40'ı plazma proteinlerine bağlı halde bulunur ve glomerulden filtre edilemez. Serum kalsiyumunun yaklaşık %50'si iyonize kalsiyum formunda bulunur. Geriye kalan %10 kalsiyum fosfat ve karbonat gibi anyonlar ile kompleks halinde bulunur (Şekil 1). Albüminin her bir gramı fizyolojik pH'da (7.4) 0.8 mg/dl kalsiyum bağlar. Hipoalbüminemi varlığında ölçülmüş olan serum total kalsiyum düzeyi değeri plazma albümin düzeyine göre düzeltilmelidir. İyonize kalsiyum, kas kasılması, pıhtılaşma, sinir iletimi, hormon sekresyonu ve etkisi (PTH ve 1,25-dihidroksi vitamin D), iyon transportu ve kemik mineralizasyonu gibi fizyolojik süreçlerde önemli yeri olan plazma kalsiyum fraksiyonudur. İyonize plazma kalsiyum konsantrasyonu vücut asit-baz durumundan önemli ölçüde etkilenmektedir. Asidemi sırasında plazma proteinleri üzerindeki negatif yüklü bölgeler artmış  $H^+$ 'ni tamponlar ve bu bölgelerden kalsiyum salınımı ile dolaşımdaki iyonize kalsiyum düzeyini artar. Alkalemi ise ters etki yaparak iyonize kalsiyum miktarını azaltır.<sup>10 11</sup>

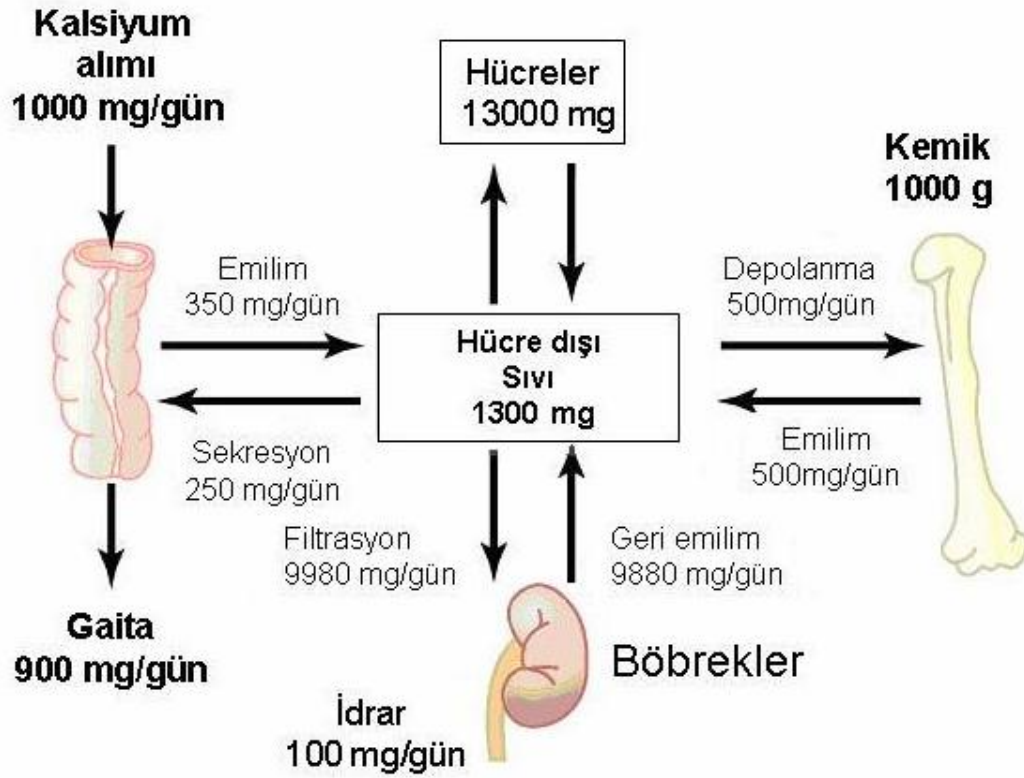
Normal koşullarda günlük diyet ile alınması gereken kalsiyum miktarı 1-3 yaş için 500 mg, 4-8 yaş için 800 mg ve 9 -18 yaş için 1300 mg şeklinde önerilmektedir.<sup>12</sup> Diyetle alınan kalsiyumun % 30-40'ı barsaklardan emilir (Şekil 2). Kalsiyum emiliminin büyük bölümü ince barsakların proksimalinden (duodenum, jejunum), az bir bölümü de ileum ve kolondan olur. Kalsiyum emilimi, oral olarak alınmasından sonraki 4 saat içinde tamamlanır.



**Şekil 1:** Vücudun değişik bölümlerinde kalsiyum dağılımı (11 nolu kaynak, sayfa 37'den alınmıştır.)

Kemikte bulunan kalsiyum eş zamanlı kemik rezorpsiyonu ve oluşumu ile sürekli dönüşüm halindedir. Kemik kitlesi yirmili yaşların geç dönemlerinden otuzlu yaşlara kadar doruk yapar ve daha önceki ve eş zamanlı beslenme ile kalsiyum alımından, egzersiz ve hormon durumundan (testosteron-östrojen) etkilenir. <sup>13</sup>

Kan kalsiyum düzeyleri hormonal mekanizmalar ile (Paratiroid hormon, kalsitonin ve D vitamini ) çok sıkı bir şekilde kontrol edilir (Şekil 3).



**Şekil 2:** Çeşitli doku bölümleri arasında kalsiyum değişimi (14 nolu kaynak, sayfa 980'den alınmıştır.)

### 2.1.1 D vitamini

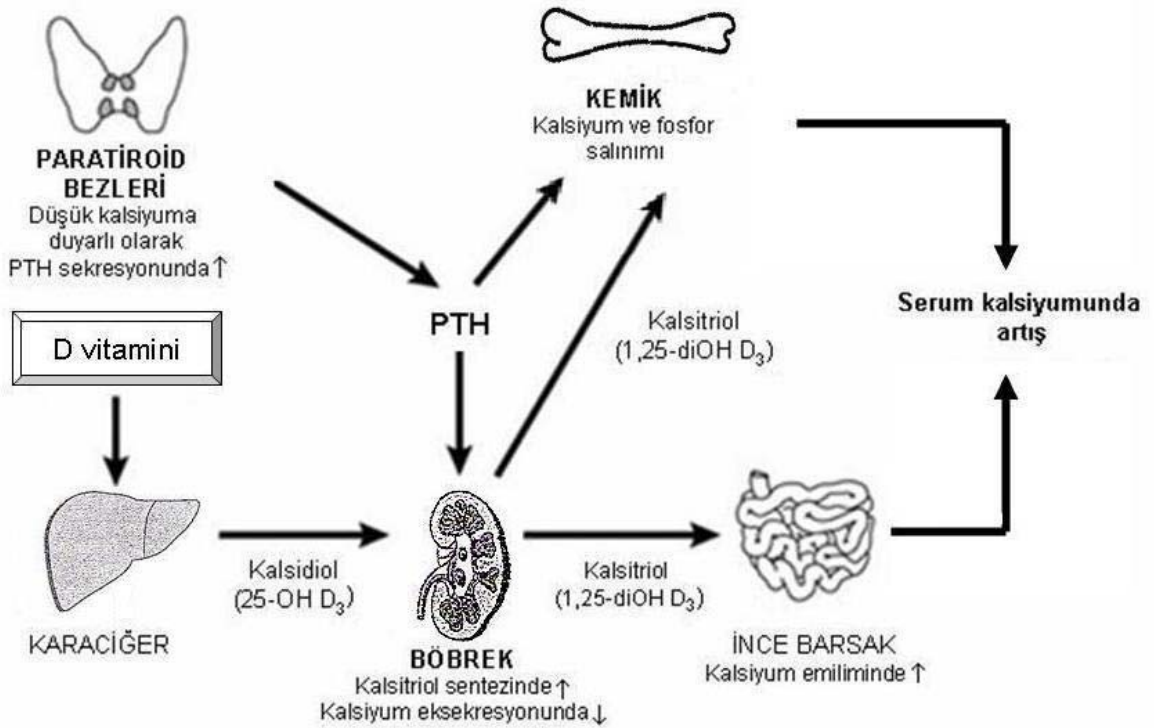
D vitaminleri, hormon benzeri fonksiyonlara sahip olan bir grup sterollerdir. Aktif molekül olan 1,25-dihidroksikolekalsiferol ( $1,25-(OH)_2-D_3$ ) hücre içi reseptörlere bağlanır.  $1,25-(OH)_2-D_3$ -reseptör kompleksi hedef hücrelerin çekirdeklerindeki DNA ile etkileşerek ya seçici olarak gen **ekspresyonunu** uyarır ya da özgün olarak gen transkripsiyonunu baskılar.  $1,25-(OH)_2-D_3$ 'ün en önemli etkisi, plazma kalsiyum ve fosfor düzeylerini düzenlemektir.

#### 2.1.1.1 D vitamini kaynakları

**a. Diyet:** Bitkilerde bulunan ergokalsiferol (Vitamin  $D_2$ ) ve hayvan dokularında bulunan kolekalsiferol (Vitamin  $D_3$ ) D vitamini kaynaklarıdır. Kimyasal yapı olarak ergokalsiferolün kolekalsiferolden farkı, ek bir çift bağ ve metil grubu içermesidir.<sup>13</sup>

**b. Endojen vitamin öncülü:** Kolesterol sentezinde bir ara metabolit olan 7-dehidrokolesterol, insanlarda dermis ve epidermiste güneş ışığına maruz kaldığında kolekalsiferole çevrilir. D vitamini, sınırlı miktarda güneş ışığına maruz kişilerde diyetsel bir gereksinimdir.<sup>13</sup>





**Şekil 3:** Kalsiyum metabolizmasında rol oynayan hormonlar (10 ve 11 nolu kaynaklardaki şekiller örnek alınarak çizilmiştir.)

### 2.1.1.2 D vitamini metabolizması

**a. 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>:** D<sub>2</sub> ve D<sub>3</sub> biyolojik olarak aktif değildirler, ancak vücutta iki hidroksilasyon reaksiyonu ile aktif D vitamini şekline çevrilirler. İlk hidroksillenme 25. pozisyonda olur ve bu işlem karaciğerde özel bir hidroksilaz tarafından gerçekleşir. Reaksiyon ürünü olan 25- hidroksikolekalsiferol veya 25-OH- D<sub>3</sub> plazmada en çok bulunan D vitamini şeklidir. 25-OH- D<sub>3</sub> başlıca böbrekte bulunan 25- hidroksikolekalsiferol 1- hidroksilaz tarafından 1. pozisyonda tekrar hidroksillenir ve 1,25-dihidroksikolekalsiferol (1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>) oluşur.<sup>13</sup>

**b. 25- hidroksikolekalsiferol 1- hidroksilaz'ın düzenlenmesi:** 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> en güçlü D vitamini metabolitidir. Oluşumu plazma fosfat ve kalsiyum iyonlarının düzeylerince sıkı bir şekilde düzenlenir. 25- hidroksikolekalsiferol 1- hidroksilaz aktivitesi plazma fosfat düzeyindeki düşme sonucu direkt olarak veya plazma kalsiyumunda azalma durumunda ise paratiroid hormon (PTH) salınımının uyarılması aracılığı ile indirekt olarak artar. Diyet ile

yetersiz kalsiyum alımı sonucu oluşan hipokalsemi plazma 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> düzeyinde artışa yol açar. 1-hidroksilaz aktivitesi ise, reaksiyon ürünü olan 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> fazlalığında azalır.<sup>13</sup>

**2.1.1.3 D vitamini'nin fonksiyonu:** 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>'ün fonksiyonu yeterli plazma kalsiyum düzeyini sürdürmektir. Bu fonksiyonlar; 1) İnce barsaktan kalsiyum emilimini artırarak, 2) Böbrekten kalsiyum kaybını azaltarak ve 3) Gerek duyulduğunda kemik rezorpsiyonunu uyararak sağlanır.<sup>13</sup>

**a. D vitamini'nin ince barsaklara etkisi:** 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>, ince barsaktan kalsiyum ve fosfat emilimini uyarır. 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> ince barsak hücrelerinde sitozolik bir reseptöre bağlanır. Daha sonra 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>-reseptör kompleksi çekirdeğe hareket eder ve burada seçici olarak hücre DNA ile etkileşir. Sonuçta özel bir kalsiyum bağlayıcı proteinin sentezi uyarılarak kalsiyum emilimi artırılır. Böylece 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>'ün etki mekanizması, steroid hormonların etki mekanizması ile benzerlik gösterir.<sup>13</sup>

**b. D vitamini'nin kemiklere etkisi:** 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>, protein sentezi ve PTH varlığına gerek duyulan bir işlem aracılığı ile kemikten kalsiyum ve fosfat serbestleşmesini uyarır. Sonuç, plazma fosfat ve kalsiyum düzeyinde artmadır. Bu nedenler kemikler, plazma kalsiyum düzeyinin sürdürülmesinde önemli bir kaynaktır.<sup>13</sup>

**2.1.1.4 D vitamini gereksinimleri ve kaynakları:** D vitamini, balık yağı, karaciğer ve yumurta sarısında doğal olarak bulunur. Takviye edilmezse sütte yetersiz miktarda D vitamini vardır. Yetişkinler için günlük önerilen doz 5 µg kolekalsiferol veya 200 İÜ D vitamindir.<sup>13</sup>

## 2.1.2 Paratiroid Hormon

Paratiroid hormon (PTH) disülfid bağı içermeyen 84 amino asitlik tek bir polipeptit zinciri olarak paratiroid bezlerden salgılanır. Paratiroid bezleri dört adet olup tiroid bezinin hemen arkasına yerleşmişlerdir. Paratiroid hormon hücre dışı kalsiyum ve fosfor konsantrasyonunun ana düzenleyici hormonudur. Paratiroid bezlerin aşırı aktivitesi hiperkalsemi'ye neden olurken düşük aktivitesi hipokalsemiye neden olmaktadır. Paratiroid hormon sekresyonu hücre dışı kalsiyum konsantrasyonundaki çok küçük değişimlere duyarlıdır. Hücre dışı kalsiyum düzeyinin artması, paratiroid bezlerden PTH salınımını kalsiyum duyarlı reseptörler aracılığı ile inhibe eder. Düşük kalsiyum düzeyi ile de PTH sekresyonu artar. Ayrıca D vitamininin en aktif formu olan 1-25 dihidroksikolekalsiferol PTH sentezini inhibe eder. Beta adrenerjik ajanlar ve düşük plazma magnezyum düzeyleri de PTH salgısını artırır.<sup>13 14</sup>

Paratiroid hormon kemikten kalsiyum ve fosfor emilimine neden olan iki etkiye sahiptir. Bu etkilerinden ilki erken evre etkisidir dakikalar içinde başlar ve saatler içinde ilerler. Bu evrede daha önceden var olan kemik hücrelerinin (başlıca osteositler) aktivasyonu ile kalsiyum ve fosfor emilimini sağlamaktadır. Çok daha yavaş olan ikinci evre birkaç gün içinde başlar ve tam olarak gelişmesi haftalar içinde olur. Bu evre osteoklastların çoğalması ve kemikten artmış osteoklastik rezorpsiyon ile sonuçlanır.<sup>14</sup>

Paratiroid hormon proksimal tübülde fosfat geri emilimini azaltarak idrar ile fosfor kaybına neden olur. Paratiroid hormon fosfat geri emilimini azaltırken eş zamanlı olarak böbrek tübüllerinden kalsiyum geri emilimini artırır. Bundan başka magnezyum ve hidrojen iyonlarının geri emilimini artırırken, sodyum, potasyum ve bazı amino asitlerin geri emiliminin fosfat ile benzer yol ile azalmasına neden olur. Kalsiyum geri emilimi başlıca geç distal tübüller, toplayıcı kanallar ve muhtemelen Henle kulpunun çıkan kolunda gerçekleşmektedir.<sup>14</sup>

Paratiroid hormon hücre zarındaki özgün reseptörü ile etki gösterir. PTH adenilat siklazı aktive eder. Artan hücre içi siklik adenozin mono fosfat (cAMP) düzeyi sonuçta böbrek tübüllerinden kalsiyumun geri emilimini artırır. Böbreklerden kalsiyum atılımı azalırken fosfat atılımı artırılarak plazma fosfat düzeyi düşer. Bu durum 25-hidroksikolekalsiferol'ün hidroksilasyonunu uyararak D vitaminin aktif formu olan 1,25-dihidroksikolekalsiferol yapımını uyarır. Paratiroid hormon barsaklardan kalsiyum ve fosfat geri emilimi üzerine etkisini 1,25-dihidroksikolekalsiferol üzerinden gösterir.<sup>13</sup>

Paratiroid hormon böbrekler üzerine olan etkisinin toplam sonucu, plazma kalsiyum düzeyinin artması, plazma fosfat düzeyinin düşmesi ve D vitamini aktivitesinin artmasıdır.

### **2.1.3 Kalsitonin**

Kalsitonin 32 amino asitlik tek bir polipeptitten oluşan, insan vücudunda tiroid bezinin parafoliküler C hücreleri tarafından üretilen bir hormondur. Kalsitonin salgısı hiperkalsemi ile uyarılır ve kalsitonin salgısı artar, hipokalsemi ile ise inhibe olur ve kalsitonin salgısı azalır. Paratiroid hormonun kalsiyum metabolizması üzerine olan baskın etkisi nedeni ile kalsitonin plazma kalsiyum konsantrasyonu üzerine çok azdır. Tiroidektomi sonrası kalsitonin sekresyonunun olmadığı kan kalsiyum konsantrasyonunda ölçülebilir bir değişiklik olamamaktadır. Kalsitonin osteoklastların absorbtif aktivitesini azaltarak ve yeni osteoklastların oluşumunu engelleyerek kemik rezorpsiyonunun azalmasına neden olur.

Kalsitonin'in ayrıca böbrek tübüllerinden ve barsaklardan kalsiyum Emilimi üzerine çok az bir etkisi vardır. Sonuç olarak kalsitonin olarak kan kalsiyum konsantrasyonunu düşürmek yönündedir.<sup>13 14</sup>

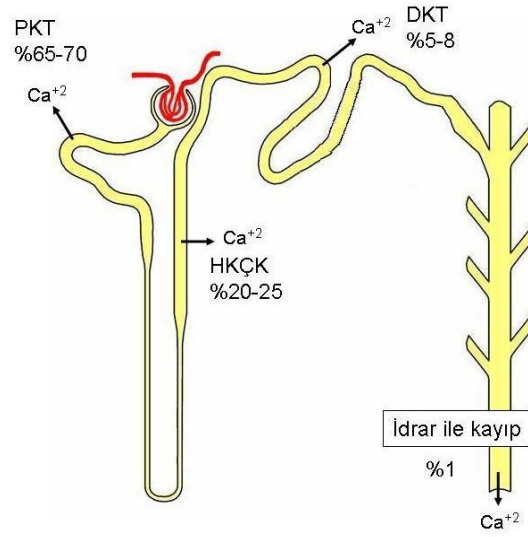
## **2.1.4 Kalsiyum Emiliminin Fizyolojisi**

### **2.1.4.1 Gastrointestinal kanaldan kalsiyum Emilimi**

Kalsiyum gastrointestinal kanaldan geri Emilimi iki transport süreci ile gerçekleştirilmektedir: fizyolojik olarak D vitamini tarafından düzenlenmekte olan "a saturable transcellular" geri Emilim ve lümendeki kalsiyum konsantrasyonuna bağlı olan "a non saturable paracellular" geri Emilim. Paraselüler geri Emilim diyetdeki kalsiyum miktarı ile ilişkili olarak değişmektedir. Diyetdeki kalsiyum miktarı yeterli olduğunda baskın olan transport süreci paraselüler geri Emilimdir bununla birlikte diyetdeki kalsiyum yetersiz olduğunda D vitamini bağımlı transselüler yol kalsiyum geri Emiliminde kritik bir rol oynamaktadır. Aktif transselüler kalsiyum geri Emiliminde 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> kontrolünde olan Epitelial kalsiyum kanalı tip 1 (ECaC1) ve Epitelial kalsiyum kanalı tip 2 (ECaC2) rol oynamaktadır. Her iki kalsiyum kanalı barsaklarda ve böbrekte eksprese olsa da ECaC2 baskın olarak tüm gastrointestinal kanalda eksprese olurken ECaC1 ise baskın olarak böbrekte eksprese olmaktadır. Epitelial kalsiyum kanalı tip 2 duodenal villusların apikal membranında lokalize olup calbindin-D(9K) ve plazma membran Ca<sup>+2</sup>-ATPase (PMCA) ile birlikte kalsiyum transportunda rol oynamaktadır (Şekil 2).<sup>15</sup>

### **2.1.4.2 Böbrekten kalsiyum geri Emilimi**

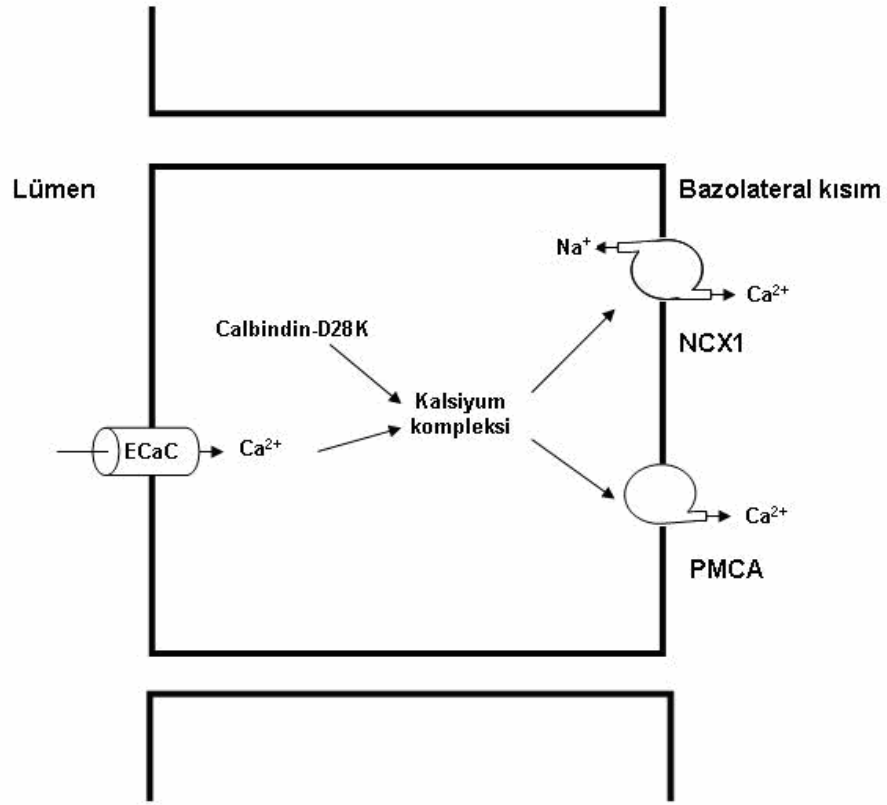
Kalsiyum homeostazisinin devam ettirilebilmesi için glomerüller ultrafiltrattaki kalsiyum renal tübüller tarafından geri Emililmektedir. Baskın olarak paraselüler mekanizmalar ile kalsiyum geri Emiliminin yaklaşık %70'i proksimal tübülden ve yaklaşık %20'si de Henle kulpunun çıkan kalın kolunda (HKÇK) gerçekleşmektedir (Şekil 4).<sup>10 11</sup>



**Şekil 4:** Nefronda kalsiyum geri emiliminin gerçekleştiği kısımlar. PKT: Proksimal kıvrımlı tübül, DKT: Distal kıvrımlı tübül, HKÇK: Henle'nin kalın çıkan kolu (11 nolu kaynak, sayfa 38'deki şekil örnek alınarak çizilmiştir.)

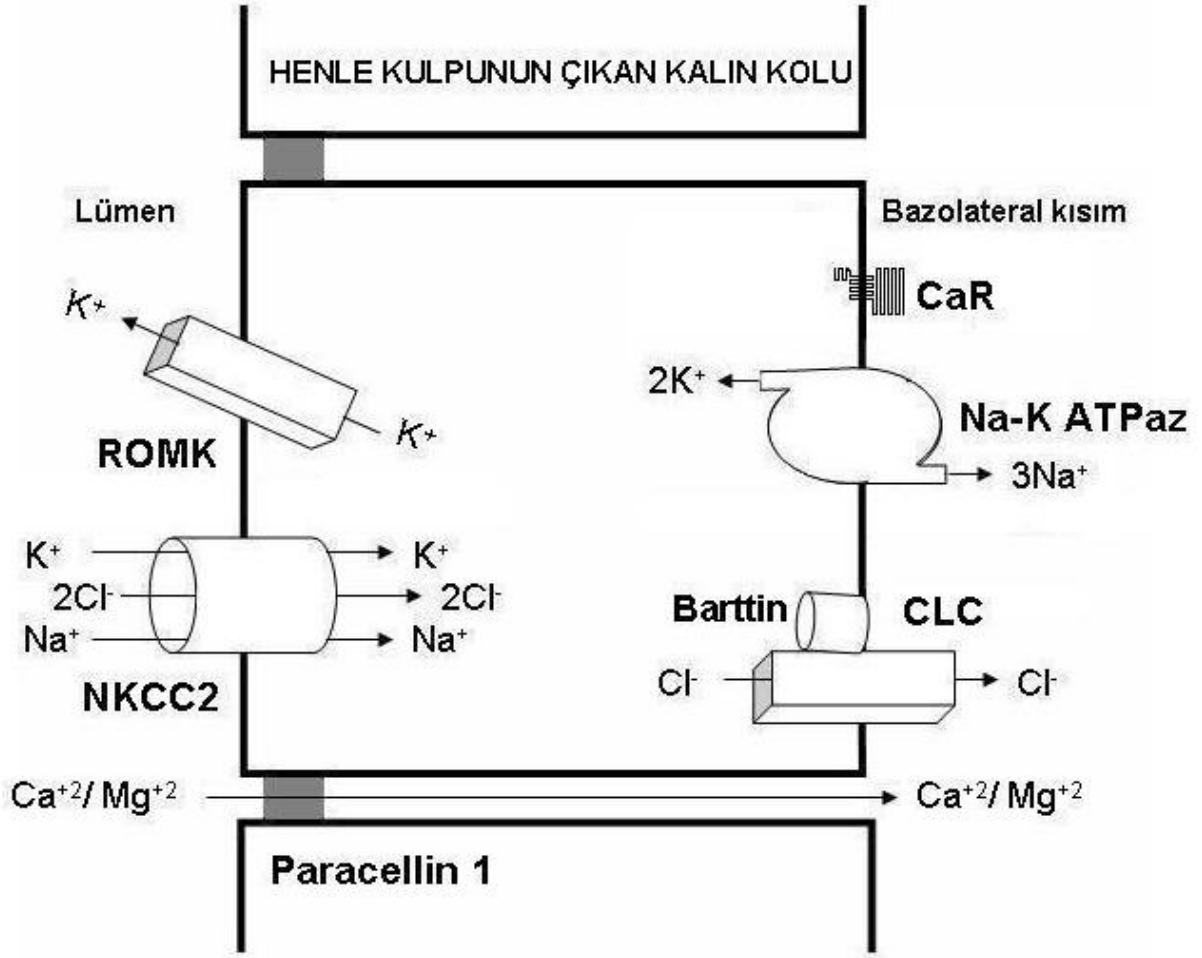
Proksimal tübülde kalsiyum geri emilimi baskın olarak su ve tuz geri emilimi ile beraber dolaylı olarak meydana gelirken, HKÇK' da parasellüler kalsiyum geri emilimi pozitif lümen potansiyeli sayesinde gerçekleşmektedir. Bu potansiyel  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$  kotransportu (NKCC2), renal dış medüller potasyum kanalı (ROMK) ve klor kanalı aracılığı ile gerçekleştirilen sodyum geri emilimi ile oluşmaktadır. Renal tübüllerde kalsiyum geri emilimi sodyum geri emilimine bağımlıdır. Bu da tedavi yaklaşımlarından diyet ile hiperkalsiürinin yönetiminin temelini oluşturmaktadır.<sup>10 11 15</sup>

Geriye kalan yaklaşık %10 kalsiyum ise distal toplayıcı tübül ve kortikal toplayıcı kanalın başlangıç kısmında aktif transsellüler yol ile geri emilir. Distal tübüldeki kalsiyum geri emilimi PTH ve  $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$  tarafından düzenlenmektedir. Distal tübüldeki hücrelerin apikal yüzlerinde bulunan epitelyal kalsiyum kanalları lümeninden kalsiyumun hücre içine taşınmasını sağlar. Hücre içine alınan kalsiyum Calbindin~D28K aracılığı ile bazolateral membrana taşınır. Bazolateral kenarda bulunan "sodium calcium exchanger 1"(NCX1) ve plazma membran kalsiyum ATPaz" (PMCA) aktif pompalardır ve kalsiyumun bazolateral membrandan sitozol dışına çıkmasını sağlarlar (Şekil 5).<sup>10 11</sup>



**Şekil 5:** Epitelyal kalsiyum kanalı (ECaC) aracılığı ile kalsiyum transportu. PMCA: Plazma membran  $Ca^{+2}$ -ATPaz, NCX1: “sodium calcium exchanger 1” (11 nolu kaynak, sayfa 38’deki şekil örnek alınarak çizilmiştir.)

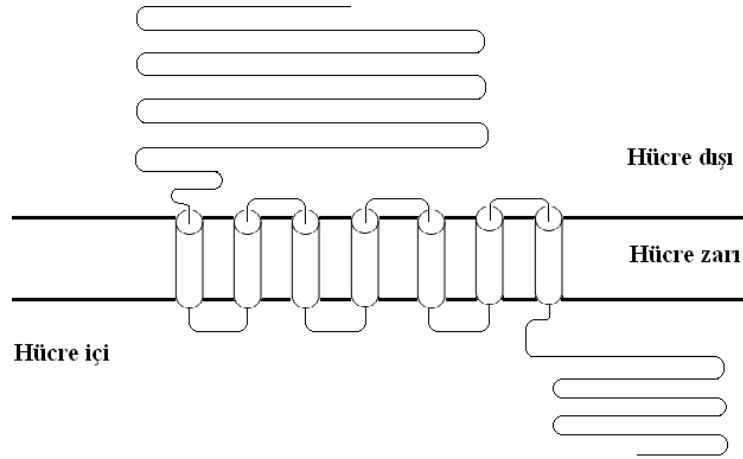
Epitelyal kalsiyum kanalı tip 1 olmayan farelerde Hoenderop ve arkadaşları tarafından artmış D vitamini düzeyine rağmen ağır hiperkalsiüriye ve kemik yapıda önemli bozukluğa neden olan azalmış aktif kalsiyum emilimi olduğunu göstermişler.<sup>16</sup>



**Şekil 6:** Henle kulpunun çıkan kalın kolunda kalsiyum Emilimi. ROMK: Böbrek dış meduller potasyum kanalı NKCC2: Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> kotransportör CLC: Klor kanalı CaR: Kalsiyum duyarlı reseptör (15 nolu kaynak, sayfa 1661'deki şekil örnek alınarak çizilmiştir.)

## 2.2 Kalsiyum Duyarlı Reseptör

Kalsiyum duyarlı reseptör (CaR) hücre dışı kalsiyum homeostasisin devam ettirilmesinde anahtar rol oynayan bir membran proteindir. Bu süreçte çeşitli dokular hücre dışı kalsiyumdaki değişiklikleri saptar ve hücre içi fonksiyonlarda değişiklik ile hücre dışı kalsiyumu normal aralıkta tutacak yanıtın verilmesini sağlar.<sup>17</sup> Kalsiyum duyarlı reseptör geni (OMIM 601199) 3q3.3-q21'de lokalize olup protein ürünü; G protein interaktif reseptörler üst ailesinden C ailesinin grup II üyesidir.<sup>18</sup> Yapısal olarak CaR hücre dışı, transmembran ve sinyal iletimine katılan hücre içi parçadan oluşan bir füzyon proteindir (Şekil 7).



**Şekil 7:** Kalsiyum duyarlı reseptör'ün şematik diagramı. (17 nolu kaynak, sayfa 1086'daki şekil örnek alınarak çizilmiştir.)

Diğer birçok hormon reseptörünün çok düşük konsantrasyonlardaki agonistlerine olan hassasiyeti gibi CaR de hücre dışı kalsiyum konsantrasyonundaki çok küçük değişikliklere duyarlıdır. Kalsiyum duyarlı reseptörün aktivasyonu fosfolipaz C'yi stimüle eder, bu da hücre membranına bağlı fosfolipit inositol 4,5-bisfosfatın iki ikincil haberciye hidrolizini katalize eder. Bu ikincil haberciler inositol 1,3,5-trifosfat ve diaçilgliserol'dür. İnositol 1,3,5-trifosfat birikimi, hücre içi depolardan kalsiyum salınımı ile sitozolik kalsiyum konsantrasyonunda artışa neden olur. Kalsiyum duyarlı reseptörün aktivasyonu ayrıca hormon stimülasyonuna neden olan hücre içi cAMP birikimini inhibe eder. Kalsiyum duyarlı reseptörün diğer bir özelliği de tek bir liganda karşı özgüllüğünün olmamasıdır; CaR magnezyum (Mg) gibi diğer divalent katyonlar, gadolinium ve lanthanum gibi trivalan elementler ve neomisin ve spermine gibi polikatyonik bileşikler tarafından da uyarılmaktadır. Muhtemelen CaR'ın Mg afinitesi hipermagnezemide PTH sekresyonunun baskılanmasından sorumludur. Ayrıca yüksek serum magnezyum düzeylerinin böbrekten kalsiyum, sodyum ve klor geri emilimi üzerine etkilerinin de böbrek tübüllerinde CaR'ın Mg tarafından aktivasyonu sonucu meydana geldiği düşünülmektedir.<sup>19</sup>

Kalsiyum duyarlı reseptör ilk olarak paratiroid dokusunda klonlanmasından sonra kalsiyum homeostasisinde rol oynayan dokularda; tiroid bezinde kalsitonin salgılayan C hücreleri, böbrek hücreleri ve ayrıca kemik ve barsak hücrelerinde de tanımlanmıştır (Tablo 1). Kalsiyum duyarlı reseptörler paratiroid hücrelerin çoğalması ve paratiroid hormon sentez



ve salgılanmasını ayarlayarak paratiroid bezinin fonksiyonlarını düzenler. Kalsiyum duyarlı reseptör primer olarak PTH sentezini düzenleyerek sistemik kalsiyum homostazisini düzenler. Düşük hücre dışı kalsiyumun CaR tarafından algılanması paratiroid bezinden PTH salgılanmasını uyarır. Hücre dışı kalsiyum artışı olduğunda negatif geri bildirim sistemi ile hemen PTH salgılanması baskılanır. Paratiroid hücrelerin sekretuar yanıtları kan kalsiyum düzeyi ile ilişkili olarak saniyeler içinde değişmektedir. Paratiroid hücre membranında çok yüksek konsantrasyonda CaR olması bu hücrelerin kalsiyum duyarlılığını sağlamaktadır. CaR'ın hücre dışındaki parçası kalsiyum ile etkileşime giren birkaç asidik aminoasitten oluşan kümeler bulundurmaktadır. Bu da CaR'ın hücre dışı kalsiyum konsantrasyonundaki küçük değişikliklerde PTH salgılanmasını düzenleyen mekanizmaları sağlar.

Paratiroid hormon böbreklerde distal tübülerde kalsiyum geri emilimi, fosfat atılımının artırılması, 25(OH)D<sub>3</sub>'ün aktif form olan 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> dönüşümünün uyarılması gibi birçok fizyolojik aktivitede rol oynar. Artmış 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> üretimi gastrointestinal kanaldan kalsiyum emilimini artırır. Bu da paratiroid hormon tarafından iskelet sisteminden mobilize olan kalsiyum salınımı ile sinerjistik bir etki gösterir. Böbrekte tübüler kalsiyum emilimi, gastrointestinal sistem ve kemikten hücre dışı sıvıya kalsiyum geçişi ile beraber hücre dışı kalsiyum düzeyinin normal sınırlarda kalmasına yardımcı olur.

**Tablo 1: CaR'ın doku dağılımı ve varsayılan fonksiyonları** <sup>20</sup>

Doku	Bölge veya hücre tipi	Kanıtlanmış veya *varsayılan fonksiyon
Paratiroid bezi	Paratiroid hücreleri	PTH ekspresyonu, PTH salgılanması ve paratiroid bezi hiperplazisinin düzenlenmesi
Böbrek	Proksimal tübül Kalın çıkan kol Distal nefron	*Transport fonksiyonlarının düzenlenmesi (Örn: Na-K-ATPaz) İdrar Ca <sup>+2</sup> eksekresyonu'nun kontrolü İdrar konsantrasyonu ve Ca <sup>+2</sup> geri emiliminin kontrolü
Tiroid	C hücreleri	Aktivasyonu kalsitonin salınımına neden olur
İskelet	Osteoklastlar Osteoblastlar Kondrositler	*Osteoklastogenezis *Kemik rezorpsiyonu Proliferasyon, jun-terminal kinaz yolağı aktivasyonu aracılığı ile ve mitojenik gen ekspresyonunda artma *Gen ekspresyonu düzenlenmesi (Örn: Pretoglikanlar)
Gastrointestinal Kanal	Mide yüzey epitel hücreleri Gastrin salgılayan hücreler Proksimal ince barsak  Kolon epitel	*Proliferasyon *Gastrin salınması *Epitel proliferasyonu ve diferansiyasyonu *Motilite *Sekretuar/emilim fonksiyonlarına etkiler *Epitelyum hücre diferansiyasyonu *Ca <sup>+2</sup> emilimi ve sekresyonu *Sıvı transportu (?sekretuar daire için tedavi hedefi)

Kalsiyum duyarlı reseptör aralarında jukstaglomeruler cisimcik, proksimal tübülün apikal membranı, Henle kulpunun medüller kalın çıkan kolu bazolateral membranı, Henle kulpunun kortikal kalın çıkan kolu, distal toplayıcı kanallar bazolateral ve iç medüller toplayıcı kanalın apikal yüzeyinin bulunduğu böbreğin birçok yerinde eksprese olmaktadır.<sup>21</sup>

<sup>22</sup> Basolateral membran boyunca en fazla kortikal kalın çıkan kolda eksprese olurken apikal membranda proksimal tübül fırçamsı kenarda S1'den S3 segmentine doğru azalarak eksprese olmaktadır. Distal toplayıcı kanal apikal membranda da ekspresyonu gösterilmiştir. Kalsiyum duyarlı reseptör böbrekte çeşitli fonksiyonlara aracılık etmektedir; Henle kulpunun kortikal kalın çıkan kolunda yer alan CaR muhtemelen hücre dışı kalsiyum ve magnezyumun tübülün bu kısmında kalsiyum, magnezyum, sodyum ve klor geri emilimini inhibe etmesine aracılık eder. Normal şartlarda tübülün bu kısmında luminal  $\text{Na}^+\text{K}^+2\text{Cl}^-$  kotransportu tarafından oluşturulan yüksek transtübüler voltaj gradiyenti ile kalsiyum ve magnezyum interselüller yol ile geri emilirler (Şekil 6). Apikal CaR aktivasyonu araşidonik asit salınımına neden olan fosfolipaz C stimülasyonuna neden olur. Sitokrom P450 tarafından metabolize edilen araşidonik asitten oluşan metabolitler apikal  $\text{K}^+$  kanalını ve olasılıkla direk  $\text{Na}^+\text{K}^+2\text{Cl}^-$  kotransportu inhibe eder. Bu etki sonucunda parasellüler kalsiyum ve magnezyum transportu azalır. Ayrıca CaR aktivasyonu, cAMP-ilişkili kalsiyum ve magnezyum transportunu PTH tarafından stimüle edilen adenilat siklazı inhibe ederek azaltır.<sup>23</sup> İç medüller toplayıcı kanalda artmış kalsiyum bazolateral membrandaki CaR aracılığı ile vasopressin tarafından cAMP oluşumunu inhibe eder. Bu da idrar konsantre edebilme yeteneğini kısıtlayarak daha az yoğun idrar ve poliüriye neden olur. Kalsiyum duyarlı reseptör'ün distal toplayıcı tübülde PTH ilişkili cAMP birikimini engelleyerek kalsiyum geri emilimini baskıladığı gösterilmiştir.<sup>24</sup>

Ayrıca artmış tübüler sıvı kalsiyum ile aktiflenen luminal CaR özgün olarak aquaporin kanalları aracılığı ile vasopressin tarafından stimüle edilen ozmotik  $\text{H}_2\text{O}$  permeabilitesini inhibe ederek idrar konsantre edebilme yeteneğini kısıtlanmasına katkıda bulunur.<sup>25 26</sup> Polivalan katyonlar, neomisin ve gentamisin tarafından CaR'ın aktivasyonu bu ajanların böbrekteki non oligürik böbrek yetmezliği gibi bazı etkilerinin nedeni olabileceği ve bunu da toplayıcı kanallarda bulunan CaR'ın aktivasyonu sonucu vasopressin duyarlı böbreğin idrar konsantre edebilme yeteneğinin bozulmasına neden olarak yol açtığı düşünülmektedir.<sup>19</sup>

## 2.3 İdiyopatik Hiperkalsiüri

İdiyopatik hiperkalsiüri terimi ilk kez Albright ve arkadaşları tarafından 1953 yılında tekrarlayan böbrek taş hastalığı olan hastalarda eş zamanlı hiperkalsemi olmaksızın artmış idrar kalsiyum atılımını tanımlamak için kullanılmıştır. 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, PTH, kalsitonin, fibroblast growth factor v.b. hormonların yönetiminde gastrointestinal kanal, kemik ve böbrek hiperkalsiürinin patogenezinde rol almaktadır. Çoğu zaman bir organdaki primer defekt diğer iki organdaki kompensatuar mekanizmaların aktifleşmesine neden olur. Örneğin barsaklardan artmış kalsiyum emilimi böbreklerden artmış kalsiyum kayıplara ikincil gerçekleşir. Hiperkalsiüri böbrek taş hastalığı olan çocuklarda saptanan en sık metabolik anormalliktir. İdiyopatik hiperkalsiüri çocuklarda sıklıkla kalsiyum oksalat taşları gözlenir, daha nadir olarak kalsiyum fosfat veya ikisinin karışımı taşlarda gözlenebilir. Genel popülasyonda sıklığı %5–10 oranında bildirilmektedir. İdiyopatik hiperkalsiüri; (1) direkt kalsiyum emiliminde artış (tip I absorptif hiperkalsiüri) veya artmış 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> aracılığı (tip II absorptif hiperkalsiüri) ile barsaklardan kalsiyum emiliminde artış; (2) böbrekten kalsiyum (renal hiperkalsiüri) veya fosfor'dan (tip III absorptif hiperkalsiüri) birinin geri emiliminde azalma; (3) artmış kemik rezorpsiyonundan (rezorptif hiperkalsiüri) biri veya kombinasyonları sonucu meydana gelebilir.

Bilinen diyet faktörleri kontrol edildikten sonra ailede pozitif böbrek taş hastalığı en önemli risk faktörü olarak gözlenmektedir. Hiperkalsiürisi olan çocukların ailelerinde böbrek taş hastalığı prevalansı %69 olarak saptanmıştır.<sup>27 28</sup> İdiyopatik hiperkalsiüri patogenezinde aralarında CaR geninin polimorfiziminin de bulunduğu çeşitli genetik mutasyonların rol aldığı öne sürülmüştür.<sup>29 30 31</sup> Bu noktada hiperkalsiürinin diğer genetik ve çevresel faktörler ile etkileşim gerektiren poligenik bir özellik olduğunu düşündürmektedir.<sup>32</sup>

### 2.3.1 İdiyopatik hiperkalsiüride D vitaminin rolü

Maierhofer ve arkadaşları tarafından normal kalsiyum içeren diyet ile beslenen sağlıklı erişkinlerde 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> uygulanması ile barsaktan kalsiyum emiliminde artış ve böbrekten kalsiyum atılımında artış olduğunu göstermişlerdir.<sup>33</sup> İdiyopatik hiperkalsiürinin anahtar noktasının kalsitriol ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlar. Ayrıca kalsiyumdan kısıtlı beslenen erişkinlere kalsitriol uygulandığında kemikten kalsiyum rezorpsiyonunda artış ve idrarda kalsiyum atılımına bağlı olarak negatif kalsiyum balansına neden olduğunu göstermişlerdir.<sup>34</sup> Benzer şekilde D vitamini toksisitesinde barsaktan kalsiyum emilimini

artırarak hiperkalsemi ve hiperkalsiüriye neden olmaktadır. Bir kısım araştırmacı sağlıklı erişkinler ile karşılaştırıldığında idiyopatik hiperkalsiüri hastalarda kan kalsitriol konsantrasyonlarının ortalamasının üstünde ve uygun olmayarak normal saptamışlar. Kaplan ve arkadaşları absorptif hiperkalsiüri olan hastaların üçte birinde kalsitriol düzeylerini yüksek, geriye kalan 2/3'ünde ise kalsitriol düzeylerinin normal olduğunu saptamışlardır. Normal kalsitriol düzeylerine sahip hastaların rölatif hipoparatiroidizmlerinin olması kalsitriol düzeylerinin uygunsuz yüksek olduğu sonucuna varmalarına neden olmuştur.<sup>35</sup> Zerwekh ve arkadaşları tarafından hem renal hiperkalsiüri hem de absorptif hiperkalsiüri hastalarda tiazidler ile idrar kalsiyum atılımı normale döndüğünü ancak renal hiperkalsiürik hastalarda barsaktan kalsiyum Emiliminde, PTH ve kalsitriol düzeylerinde azalma olduğunu saptamışlardır.<sup>36</sup> Bu bulgular, renal hiperkalsiüride barsaktan aşırı kalsiyum Emiliminin artmış 1,25-(OH)<sub>2</sub>-vitamin D konsantrasyonuna bağlı olduğu hipotezini desteklemektedir. Bununla birlikte absorptif hiperkalsiüri tamamen artmış 1,25-(OH)<sub>2</sub>-vitamin D'ye bağlı olmayabilir.

Sodyum-fosfat kotransportör (NPT) böbrekten filtre edilen fosfatın büyük kısmının proksimal tübül epitelinde geri Emiliminde rol oynayan bir membran proteindir. Sodyum-fosfat kotransportör tip 2a ekspresyonu olmayan homozigot mutant (NPT2a<sup>-/-</sup>) farelerde yapılmış olan çalışmada böbrekte kalsitriol sentezinde artış olduğu gösterilmiştir. Artmış olan kalsitriol barsaktan kalsiyum ve fosfatın Emiliminde artışa neden olur. Bu da sonuç olarak hiperkalsiüri ve PTH'nın baskılanmasına neden olur.<sup>37</sup> NPT2a<sup>-/-</sup> farelerde 1 $\alpha$ -hidroksilaz geninin inaktive edilmesi idrar kalsiyum atılımının azaltılması sonucu böbrek taşı gelişimini önlemektedir.<sup>38</sup> Benzer şekilde X'e bağlı hipofosfatemik rikets ve otozomal hipofosfatemik rikets gibi hipofosfatemik tübüler bozuklukların olduğu hastalarda "Fibroblast Growth Factor-23"ün inhibitör etkisi ile kalsitriol üretimi azaltıldığından tekrar kalsitriol verilmeye kadar hiperkalsiüri gözlenmemektedir.<sup>39</sup> 40 Otozomal dominant hipofosfatemik rikets, X'e bağlı hipofosfatemik rikets ve onkogenik hipofosfatemik osteomalazi de fosfatının olarak adlandırılan dolaşımdaki fosfatürik humoral faktörler rol almaktadır. Bu üç hastalık uygunsuz düşük veya normal serum 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D düzeyi, renal kayba bağlı hipofosfatemi, rikets veya osteomalazi ile karakterizedir. Genetik hiperkalsiürik taş oluşturan sıçan (GHS) modelinde yapılan çalışmalar enterositlerde vitamin D reseptörlerinin (VDR) sayısal artışı ve/veya artmış fonksiyonu gösterilmiştir.<sup>41</sup> 42 Favus ve ark normal kalsitriol düzeyi olan idiyopatik hiperkalsiüri hastaların periferik kandan ayrıştırılmış monositlerinde VDR sayısında artış olduğunu gösterilmiştir.<sup>43</sup>

Genetik hiperkalsiürik taş oluşturan sıçanlarda yapılan çalışmalar hiperkalsiüri gelişiminde kemiklerin rolünün barsaklar kadar önemli olduğunu göstermektedir. Düşük kalsiyum içeren diyet ile beslenen GHS sıçanlarda artmış kemik rezorpsiyonunun rolü olduğunu düşündürecek şekilde günlük diyetle aldıklarını aşan miktarlarda idrar ile kalsiyum atımı devam etmektedir. Krieger ve arkadaşları GHS sıçanlarda kemiğin 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>'ün indüklediği kemik rezorpsiyonuna duyarlı olduğunu ve Bushinsky ve arkadaşları düşük kalsiyum içeren diyet ile beslenen GHS sıçanların idrar kalsiyum atılımının alendronat ile azaldığını göstermişlerdir.<sup>44 45</sup> Weisenger ve arkadaşları hiperkalsiürik erişkinlerde alendronat'ın idrar kalsiyum atılımını azalttığı gösterilmiştir.<sup>46</sup> Bir önceki çalışmaya benzer şekilde Freundlich ve arkadaşları yaptıkları çalışma ile bifosfonatların osteopenisi olan hiperkalsiürik çocuklarda idrar kalsiyum atılımını azalttığını bildirmişlerdir.<sup>47</sup>

Hiperkalsiüri karmaşık poligenik özellikte olup muhtemelen hiperkalsiürinin absorptif ve renal formları tek bir hastalığı tamamlayan ardışık süreçleri yansıtmaktadır. İdiyopatik hiperkalsiürili erişkin hastalara düşük kalsiyum içeren diyet verildiğinde pozitif kalsiyum balansında kalan hastaların barsaklardan artmış kalsiyum emiliminin hiperkalsiüriye neden olduğuna işaret etmekte iken negatif kalsiyum balansındaki hastalarda ise diğer hiperkalsiüri mekanizmalarının etkili olduğunu düşündürmektedir.<sup>48 49</sup> Hiperkalsiürili çocuklarda artmış kemik dönüşümünün kanıtlarının olmaması renal ve absorptif hiperkalsiürinin farklı fizyolojik antiteler olmadığını düşündürmektedir.<sup>50</sup>

### **2.3.2 İdiyopatik hiperkalsiüri ve osteoporoz ilişkisi**

Asplin ve arkadaşları idiyopatik hiperkalsiürik taş hastalarında idrarda kalsiyum atılımının şiddetinin kemik kaybının en iyi göstergesi olduğunu göstermişlerdir.<sup>51</sup> Vezzoli ve arkadaşları stronsiyum emilimi ile barsaktan kalsiyum emiliminin artmış olduğunu kanıtladıkları hiperkalsiürik böbrek taş hastası kadınların hiperkalsiürik olmayanlar ile karşılaştırıldığında daha düşük kemik mineral yoğunluğuna (BMD) sahip olduklarını gözlemlemişlerdir.<sup>52</sup> Benzer şekilde Pietschmann ve arkadaşları hiperkalsiürik taş hastalarının normokalsiürik olanlara göre daha düşük spinal BMD' ye sahip olduklarını bildirmişlerdir.<sup>53</sup> Buna karşın normokalsiürik ve hiperkalsiürik böbrek taş hastalarının BMD'leri arasında fark olmadığını gösteren çalışmalarda bulunmaktadır.<sup>54 55</sup>

Penido ve arkadaşları idiyopatik hiperkalsiürik çocuklarda daha düşük BMD olduğunu buldular ve takip eden çalışmalarında bu bulgunun hiperkalsiüriye ek olarak hipositratürisi olan çocuklarda daha belirgin olduğunu saptamışlardır.<sup>56 57</sup> Neto ve arkadaşları daha önceki yaptıkları çalışmada benzer bir gözlemde bulunmuşlardır.<sup>58</sup> Benzer şekilde Freundlich ve arkadaşları hiperkalsiürik çocuklarda azalmış BMD'nin varlığının yanı sıra çocukların asemptomatik annelerinde de yüksek insidanda hiperkalsiüri ve daha düşük BMD olduğunu göstermişlerdir.<sup>59</sup>

Hiperkalsiürik hastalar Pak sınıflandırmasına göre değerlendirildiğinde BMD azalmasının renal hiperkalsiürik hastalarda absorptif hiperkalsiüriye göre daha sık ve daha fazla olduğu görülmektedir.<sup>60</sup> Absorptif hiperkalsiüride BMD' de azalma olmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır.<sup>61 62</sup> Sonuç olarak mevcut literatürdeki eğilim erişkinlerde hiperkalsiürinin azalmış BMD ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bununla beraber alt gruplar karşılaştırıldığında sonuçlar oldukça değişken olduğu gözlenmektedir.

İdiyopatik hiperkalsiüri patogenezinde rol oynayan etmenler kemikte rezorpsiyona veya artmış kemik döngüsüne neden olduğu düşünülmektedir. Kalsiyum ve fosfor geri emilim defektlerine ikincil PTH ve/veya kalsitriol artımı ile artmış protein alımı kalsiyumun tübüler geri emiliminde azaltma ve kemikten kalsiyum mobilizasyonuna neden olarak mineralizasyonun azalmasına yol açabilir.<sup>63 64 65 66</sup> Ayrıca, idiyopatik hiperkalsiüriye neden olan temel mekanizmalar arasında primer olarak kemik rezorpsiyonunda ve/veya kemik döngüsünde artmanın yer aldığı, bunun artmış sitokinler yoluyla gerçekleştiği bildirilmiştir.<sup>67</sup>

Bordier ve arkadaşları kalsiyum taşı olan idiyopatik hiperkalsiüri 47 hastaya böbrek biyopsisi yapmış ve tüm grup için böbrek bulguları normal sınırlarda saptanmıştır. Bununla birlikte hastalar renal tip hiperkalsiüri ve absorptif tip hiperkalsiüri diye değerlendirildiğinde kemik dönüşümünde iki farklı patern gözlenmiştir. Paratiroid hormon yüksekliği olan hastalarda artmış kemik dönüşümü ile uyumlu olarak artmış osteoklastik ve osteoblastik yüzey saptanmıştır. Diğer taraftan barsaktan aşırı kalsiyum emilimi olan hastalarda kemik oluşum kusuru olduğu gözlenmiştir. Osteoid parametreler gibi osteoblastik yüzey azalmıştır. Bununla birlikte düşük kemik oluşumu nedeni ile rezorbe edilmiş lakunlerin dolum kusurundan kaynaklanan osteoklastik ve aşınmış yüzeylerin artığı bildirilmiştir.<sup>69</sup> De Vernejaoul ve arkadaşları idiyopatik hiperkalsiüri 30 hastanın statik ve dinamik parametrelerini bildirmişlerdir. Üç hastada immünoreaktif PTH yüksek olarak saptanmış

olmasına rağmen bu hastalar için alt sınıflandırma yapılarak değerlendirilmemiştir. Osteid parametreler normal iken trabeküler kemik hacminde hafif azalma gözlenmiştir. Normal osteid parametreler ve minerilizasyona rağmen osteoblastik yüzeyde anlamlı azalma saptanmıştır. Rezorpsiyon parametresi olarak osteoklastik yüzey azalmış fakat aşınmış yüzey normal olarak gözlenmiştir. Yazarlar normal kemik rezorpsiyonuna karşın kemik oluşumunda azalmaya bağlı olarak trabeküler kemik hacminde azalma olduğunu öne sürmüşlerdir.<sup>70</sup> Malluche ve meslektaşları idiyopatik hiperkalsiürlü 15 hastayı incelemiştir. Bu hastaların emilmeyen bir kalsiyum bağlayıcısı olan selüloz fosfat uygulaması sonrası kalsiyum kreatinin oranları düştüğünden absorbtif tip hiperkalsiürlü olduğu saptanmıştır. Kemik biyopsileri artmış osteoid hacim ve yüzeyin yanı sıra azalmış osteoblast sayısı ile defektif kemik oluşumu olduğunu ortaya koymuştur. Aktif olarak iki kez işaretlenmiş tetrasiklin yüzeyleri yaklaşık yarısı kadar azaldığından osteoid yüzeyin inaktif olduğu düşünülmüştür. Kemik rezorpsiyonunun artmadığı gözlenmiştir. Yazarlar absorbtif tip hiperkalsiürlü hastalarda defektif kemik oluşumu olduğu sonucuna varmışlardır.<sup>71</sup> Belki de bu güne kadar olan en fazla hasta sayısı ile yapılmış çalışma Steiniche ve arkadaşları tarafından yapılmıştır.<sup>72</sup> Kalsiyum taşı olan 33 hastanın histomorfometrik kemik bulgularını 30 yaş ve cinsiyet uygun kontrol ile karşılaştırmışlar. Bu hastaların normal PTH ve serum fosfat düzeylerine sahip iken hiperkalsiürlü gibi artmış fosfatürlü sergilemekte olmalarından muhtemelen diyet veya idiyopatik orjinli hiperkalsiürlü olduğu anlaşılmaktadır. Histomorfometrik verileri azalmış kemik oluşumu ve artmış minerilizasyon zamanı olduğunu göstermektedir. Muhtemelen kemik oluşumunun azalmış olması nedeni ile ikincil lakunlerin yeni kemik dokusu ile dolması olamamakta bu durum da total rezorpsiyon yüzeyleri artmış olarak gözlenmektedir. Küçük hasta sayılarından oluşan iki çalışmada kemik histomorfometrisine ek olarak BMD ölçümü kullanılmış.<sup>73 74</sup> Beklendiği gibi her iki seride de BMD idiyopatik hiperkalsiürlü hastalarda düşük bulunmuş. Her iki seride de kemik oluşumu düşük olmasına rağmen Heilberg'in çalışmasında açlık hiperkalsiürlü olan 6 erkek hastada kemik oluşumu ve rezorpsiyonu arasında orantısızlık varlığına işaret eden osteoklastik kemik rezorpsiyonunda artış gözlenmiştir.<sup>73</sup> Da Silva'nın çalışmasında kalsiyum taşı olan 5 hastada defektif minerilizasyon ve artmış osteoid ve rezorpsiyon yüzeyi gösterilmiştir. Bataille ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada böbrek taş hastalığı olan hiperkalsiürlü 24 hastanın vertebra BMD ortalama z-skoru değerleri 0,5 daha düşük bulunmuştur.<sup>75</sup> Yirmi üç hastada açlık hiperkalsiürlü ve bir hastada absorbtif hiperkalsiürlü saptanmış. Biyopside osteoid

parametreler ve kemik rezorpsiyon yüzeyinde ki gibi trabeküler kemik hacminde azalma gözlenmiştir. Dinamik parametreler minerilizasyon zamanında anlamlı artış olmaksızın azalmış kemik oluşumu ve mineral eklenme oranında azalma göstermiştir. Bataile'ın çalışmasında çoğu hastada açlık hiperkalsiüri olduğu göz önünde bulundurulduğunda artmış kemik rezorpsiyonunun saptanması beklenirken kemik rezorpsiyonu lehinde bulgu saptanmamıştır. Bununla birlikte rölaf olarak kemik biyopsisinde normal kemik rezorpsiyon yüzeyi olan hastalarda artmış hidroksiprolinüri gösterilmiştir. Bu sonraki bulgular kemik rezorpsiyonunu gösteren histomorfometrik bulgular ile kemik dönüşümüne ait biyokimyasal belirteçler arasında bir uyumsuzluğu vurgulamaktadır.

Veriler hem çocuk hem de erişkin hiperkalsiürik hastalarda kemik kaybı riskini göstermektedir ve bunun başlangıcının çocukluk çağında olabileceği göz önünde bulundurularak kalsiyum dengesini değerlendirmek için BMD izleminin yapılması düşünülmelidir.

### **2.3.3 İdiyopatik hiperkalsiüriye yaklaşım ve yönetimi**

Hiperkalsiüri çocuklarda glomerüler olmayan hematüri (gros veya mikroskopik), infeksiyöz olmayan dizüri, idrar sıklığında artış ve dizüri, karın ve bel ağrısı veya böbrek taş hastalığı şeklinde ortaya çıkabilir.<sup>76 77</sup> Hiperkalsiüri intermitant, persistan, geçici bir fenomen veya ailede böbrek taş hastalığı öyküsü ile ilişkili olabilir. Bir çocukta hiperkalsiüri saptandığında sekonder etiyoloji göz önünde bulundurulmalıdır, hiperkalsiürinin başarılı bir şekilde düzeltilmesi bu vakalarda primer nedenin eradikasyonuna bağlıdır. Pozitif aile öyküsü, büyüme geriliği, rikets, asit baz bozuklukları, böbrek disfonksiyonu, proteinüri, elektrolit inbalansı, dismorfik özellikler ve tedaviye zayıf yanıt varlığında hastalar hiperkalsiüri ile karakterize nadir monogenik bozukluklar açısından değerlendirilmelidir.

Hiperkalsiüri çocuklarda  $>4$  mg/kg/gün idrar kalsiyum atılımı olarak tanımlanmaktadır. Bununla birlikte hiperkalsiüri erişkin kadınlarda 250 mg/gün'ün erişkin erkeklerin ise 300 mg/gün'ün üstündeki idrar kalsiyum atılımı olarak tanımlanmaktadır. Yirmi dört saatlik idrarda  $>4$ mg/kg/gün veya idrar kalsiyum/kreatinin oranı  $>0,21$  istatistiksel olarak sınır alındığında hiperkalsiürinin klinik değerlendirmesi yakın zamanda ayrıntılı olarak yapılmıştır.<sup>78</sup> Çocuklarda tedavi stratejileri hakkında çeşitli sorular gündeme gelmiştir. Çocuklarda farmakolojik tedavinin yalnız semptomatik hastalarda kullanılması, bununla beraber farmakolojik olmayan yaklaşımların daha liberal kullanılabileceği belirtilmektedir.



Farmakolojik olmayan yaklaşım olarak; diyetle günlük protein ve kalsiyum alımının yanı sıra günlük tuz alımının aşırı olmaması (2,0–2,4 gr) ve günlük beş altı porsiyon meyve ve beş altı porsiyon sebze (3,0–3,5 gr potasyum) alımı önerilmektedir. Diyet uyumu idrarda Na/K oranı bakılarak takip edilebilir, bu oran <2,5 olmalıdır. Tuz, protein, sebze ve meyve ile diyet düzenlenmesinin veya geleneksel olarak çok sıvı almanın hiperkalsiürideki rolü bilinmekle beraber çocukların uyumu her zaman mümkün olmamaktadır. Eğer hiperkalsiüri 4–6 hafta sebat edecek olursa tedaviye potasyum sitrat (kilogram başına 0,5–1,5 mEq potasyum içerecek şekilde) önerilmektedir. Çocuk potasyum sitratı tolere edemezse veya hiperkalsiüri düzelmeyorsa tiyazid diüretikler tedaviye eklenebilir.<sup>15 79</sup> Klorotiyazid 15-25 mg/kg/gün veya hidroklorotiyazid 1,5-2,5 mg/kg/gün, iki dozda kullanılabilir. Geçmişte tiyazid ilişkili hipokalsiürinin hacim azalmasına ikincil proksimal tübülde artan sodyum geri emilimi ile beraber pasif kalsiyum geri emilimine bağlı olarak geliştiği ileri sürülmekteydi.<sup>80</sup> Costanzo ve arkadaşları akut klorotiyazid uygulanmasının distal toplayıcı kanalda transsellüler kalsiyum transportunu stimüle ettiğini gösterdiler.<sup>81</sup> Bu bulgu yakın zamanda tiazidlerin distal toplayıcı kanalda ECaC1 ve calbindin-D(28K) ekspresyonunu artırdığı ve sodyum-klorid kotransportör ekspresyonunu azalttığı gösterilerek doğrulandı.<sup>82</sup> Geçmişteki uygulamalara karşın hiperkalsiürik çocuklarda diyetle kalsiyum kısıtlanması önerilmemektedir. Kalsiyum kısıtlanması büyümekte olan çocukları negatif kalsiyum balansına girmesi ve zayıf kemik mineralizasyonu riskine neden olmaktadır. Renal tübüler asidoza ikincil hiperkalsiüri olan çocuklarda potasyum sitrat bir tedavi seçeneğidir.

## **2.4 Kalsiyum Duyarlı Reseptör ve Böbrek**

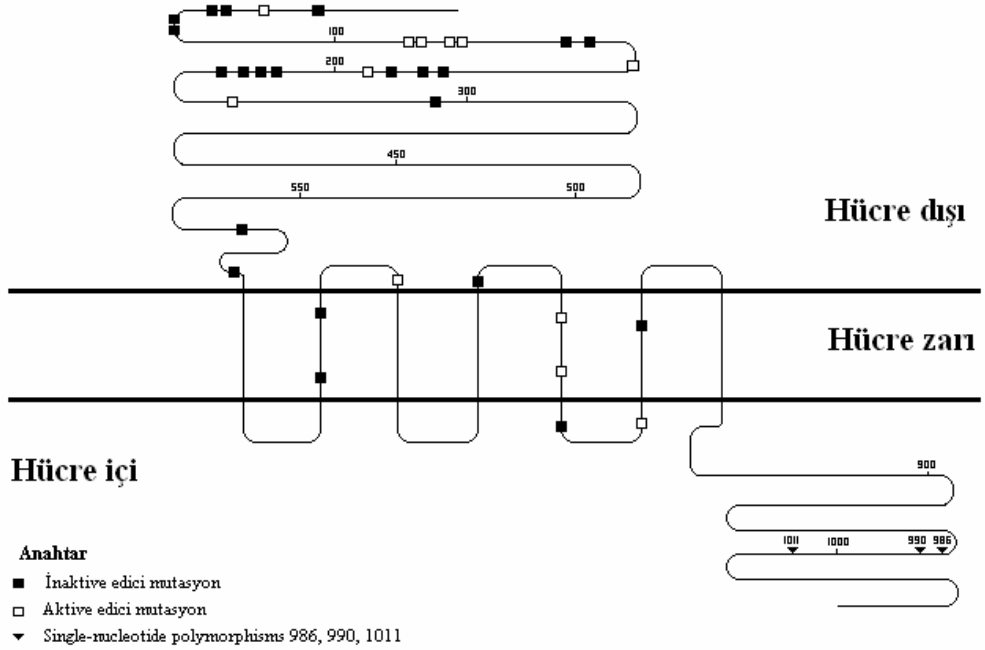
### **2.4.1 Kalsiyum duyarlı reseptör ve mezangial hücre çoğalması**

Böbrekte filtrasyonun başladığı kısım olması nedeni ile glomerüller nefronun önemli bir bileşenidir. Glomerüller endotel hücreleri, mezangial hücreler, epitelyal hücreler ve podositler gibi çeşitli hücrelerden oluşmaktadır. Mezangial hücreler yüzey alanını ve/veya glomerüler kan akımını değiştirerek glomerüler filtrasyon oranının düzenlenmesinde rol oynarlar. Bundan dolayı mezangial hücre proliferasyonu glomerüler hasarda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Kalsiyum duyarlı reseptör'ün böbrek dokusundaki fizyolojik rollerinin araştırılması böbrek hastalıklarının patofizyolojisinin anlaşılmasında önemli rol oynayacaktır.

Fare mezangial hücrelerinde CaR geninin varlığı gen ürünü proteinin Western Blot ve immuno-histokimyasal analizler ile gösterilerek tanımlanmıştır. Kalsiyum duyarlı reseptörün fizyolojik etkileri, kalsiyumun hücre proliferasyonu üzerine etkisini araştırmak amacı ile in vitro fare mezangial hücre kültüründe yapılmış çalışmada hücre dışı kalsiyum konsantrasyonunda artışın hücre sayısında artışa neden olduğu gözlenmiştir. Kalsiyum'un bu mitojenik etkisi eş zamanlı uygulanan CaR antagonistleri ile inhibe edildiği gözlenmiştir. Bu sonuçlar göre kalsiyum fare mezangial hücreleri üzerine mitojenik etkiye neden olmaktadır.<sup>5</sup>

#### **2.4.2 Kalsiyum duyarlı reseptör ve idiyopatik hiperkalsiüri**

Kalsiyum duyarlı reseptör geninin CaR'ın hücre içi parçasını kodlayan 7. exon da nonkonservatif aminoasit değişikliğine neden olan üç grup tekli nukleotid polimorfizmi "single nucleotide polymorphisms" (SNP) tanımlanmıştır. En sık rastlanılan SNP Ala986Ser varyantıdır. Arg990Gly ve Gln1011Glu daha az rastlanılan SNP varyantlarıdır (Şekil 8). Bu aminoasit değişikliklerinin fonksiyonel etkileri henüz bilinmemektedir fakat Ala986Ser alleli taşıyan sağlıklı bireylerde asemptomatik hafif artmış plazma kalsiyum konsantrasyonları saptanmıştır.<sup>83 84</sup> İnsanlarda ve köpek tübül hücrelerinde CaR'ın aktivasyonunun hücrel kalsiyum transportu üzerine inhibitör etkilerini gösteren çalışmalar CaR'ın kalsiyum ekskresyonu üzerinde anahtar rol oynadığını düşündürmektedir.<sup>85 86</sup> Kalsiyum duyarlı reseptör geni normal plazma kalsiyum konsantrasyonu varlığında artmış kalsiyum ekskresyonu ve böbrek kalsiyum taşlarına predispozisyon ile karakterize ailevi bir hastalık olan idiyopatik hiperkalsiüri için aday bir gen olarak düşünülmüştür.<sup>87</sup> Ancak bu görüşe karşıt olarak kalsiyum taşı oluşturan Fransız-Kanadalı kardeşlerde yapılan bir çalışmada idiyopatik hiperkalsiüri ve CaR gen lokusu arasında bir bağlantı bulunamamıştır.<sup>88</sup> Bu bulgular ışığında, CaR geni idiyopatik hiperkalsiüri için ana belirleyici etken değilse bile, polimorfiziminin tübül kalsiyum geri emilim kapasitesini etkilediğini düşündürmektedir.



**Şekil 8:** CaR aktive edici, inaktive edici mutasyonlar ve “single nucleotide polymorphisms” (17 nolu kaynak, sayfa 1086’deki şekil örnek alınarak çizilmiştir.)

Vezzoli ve arkadaşları hiperkalsiürik ve normokalsiürik böbrek kalsiyum taş hastaları ile sağlıklı bireylerde yaptıkları, kalsiyum ekskresyonu ve CaR gen SNP değerlendirilmesinde; Arg990Gly taşıyan bireylerde hiperkalsiüri için rölatif riskin yüksek olduğunu saptamışlardır. Böylece CaR geninin kalsiyum ekskresyonunun düzenlenmesinin temelindeki karmaşık genetik yapının bir parçası olabileceği ileri sürülmüştür.<sup>30</sup> Bir önceki çalışmadaki bulguları doğrulamak amacı ile böbrek taş hikâyesi olmayan normokalsiürik ve hiperkalsiürik kadınlarda CaR gen polimorfizmi araştırılmış; Arg990Gly polimorfizmi olan grup 990R alleleline sahip kadınlar ile karşılaştırıldığında hiperkalsiürik olma riskinin artmış olduğu ve daha yüksek kalsiyum ekskresyonu sergiledikleri gözlenmiştir. Bu bulgular Arg990Gly polimorfizminin artmış CaR fonksiyonu ile ilişkili olduğu primer hiperkalsiüri için yatkınlığa neden olduğunu işaret etmektedir.

## 2.5 Kalsiyum Duyarlı Reseptör ve Kemik

Kemik kalsiyum tuzları ile dayanıklılığı artmış organik matriksten oluşmaktadır. Kemiğin organik matriksi kollajen lifleri ve proteoglikanlardan meydana gelmektedir.

Kompakt kemik ağırlığının yaklaşık %70'i mineral tuzlardan %30 matriksten oluşmaktadır. Hidroksiapatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) kemikte en çok bulunan tuz kristalidir.

Kemik dokusunun oluşumu osteoblastlar tarafından zemin dokuyu proteoglikanlar ve kollajen moleküllerinin sekresyonu ile başlar. Kollajen moleküllerinin polimerize olması ve kalsiyum tuzlarının çökmesi ile kemik dokusu meydana gelir. Kemik dokusu osteoblastlar tarafından sürekli oluşturulmakta ve aynı zamanda osteoklastların aktif olduğu yerlerde sürekli yıkılmaktadır. Osteoblastlar kemiğin dış yüzeyinde ve kemik oyuklarında bulunmaktadırlar. Tüm canlı kemiklerde az miktarda osteoblastik aktive ile yeni kemik oluşumu sürekli devam etmektedir. Büyüyen kemikler dışında normalde kemik oluşum ve yıkım oranları bir birine eşittir ve kemik kütlesi sabit kalır. Osteoklastlar oluştukları noktada kemiği yıkarak kemikte 0,2–1 mm çaplı ve birkaç mm uzunluğunda tüneller oluştururlar. Daha sonra bu oluşan tünellere osteoblastlar yerleşerek yeni kemik oluşumunu sağlarlar. Kemiğin osteoklastlar tarafından kemik yıkımı ikincil olarak osteoblastik aktiviteye neden olduğundan osteoklastların sayısının azalmasını osteoblastların sayısının azalması takip eder.

Fizyolojik kondrogenesis ve kemik büyümesi için hücre dışı kalsiyum çok önemli bir rol oynamaktadır. Artan hücre dışı kalsiyum konsantrasyonu kollajen X ekspresyonunu artırırken hücre dışı kalsiyumun etilen glikol tetraasetik asit ile ortadan kaldırılması ile matürasyon süreci engellenmektedir.<sup>89 90</sup> Sitolik kalsiyum konsantrasyonu hücre içi depolardan salınım ve hücre membranından geçiş ile düzenlenir. Kalsiyumun sitoplazma içine akışı voltaj bağımlı kanalların kontrolü altındadır. Fetal sıçan metatars kültüründe verapamil ile doz bağımlı olarak bu kanalların blokajı uzunlamasına büyümeyi, kondrosit proliferasyonunu ve farklılaşmasını inhibe ettiği gösterilmiştir.<sup>91</sup>

Kalsiyum duyarlı reseptör'ün kemik hücre regülasyonu üzerine etkileri net olarak bilinmemekle beraber CaR agonistlerinin osteoklastlar üzerine potansiyel inhibitör etkiye ve CaR antagonistlerinin osteoblastlar üzerine potansiyel stimülatör etkileri olduğu düşünülmektedir.<sup>8</sup> Bununla birlikte in vitro olarak erişkin insan hücre kültüründe yapılan bir çalışmada kalsiyumun osteoblastik hücre sayısında artışa ve osteoklast formasyonu/fonksiyonlarında azalmaya neden olduğu gösterilmiş. Ayrıca kalsimimetik ajan (Cinacalcet HCl) ile kalsiyumun bu etkisini potansiyalize olmadığı gösterilmiş bunun CaR dışında bir reseptör veya mekanizma ile gerçekleştiği ileri sürülmüştür.<sup>9</sup>

Kronik böbrek yetersizliği olan sıçanlarda günlük olarak (Fakat infüzyon şeklinde değil) bir kalsimimetik olan NPS R-568 'nin aralıklı uygulanması ile kısa süreli PTH

baskılanması ile anlamlı bir şekilde trabeküler kemik kalınlığını normalleştirerek kemik hacminde artışa neden olduğu ve kemik mineral yoğunluğunda %14'lük bir artış sağlayarak kemikler düşük turnover lezyonlar üzerine anabolik etkisi olduğu gösterilmiştir.<sup>92</sup>

Uzunlamasına kemik büyümesi çeşitli hormon ve sitokinlerin etkisi altında kontrol edilen bir süreçtir. "Ex vivo" modelde R-568 kullanılarak CaR aktivasyonunun kondrogenesis üzerine olan etkileşimi araştırılmak amacı ile fetal sıçan metatars kemikleri kullanılarak yapılan bir çalışmada CaR aktivasyonunun uzunlamasına büyüme üzerine olumlu etkileri olduğu ileri sürülmüştür.<sup>93</sup> Fakat bu in vitro çalışmalara karşın yakın zamanda yapılmış olan in vivo bir çalışmada üremik genç sıçanlarda 15 mg/kg dozunda Cinacalcet 'in 14 gün uygulanması sonrasında uzunlamasına büyüme, büyüme plakları ve fonksiyonları üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir.<sup>94</sup>

## **2.6 Kalsiyum Duyarlı Reseptör İlişkili Hastalıklar**

Kalsiyum duyarlı reseptörün ilk olarak inek paratroid dokusunda 1993 yılında klonlanmasından bu yana CaR'ın birçok inaktive edici ve aktive edici mutasyonu tanımlandı.<sup>18</sup> (Şekil 8) Kalsiyum duyarlı reseptörün inaktivasyon mutasyonları hücre dışı kalsiyuma direnç ile karakterize olan iki hiperkalsemik hastalık ile ilişkilidir; ailevi hipokalsiürik hiperkalsemi ve neonatal ağır primer hiperparatiroidizm'e neden olmaktadır. Kalsiyum duyarlı reseptörün aktivasyon mutasyonları ise hücre dışı kalsiyuma duyarlılığın artışı otozomal dominant ve sporadik hipokalsemiye neden olmaktadır.

Ailevi benign hipokalsiürik hiperkalsemi genellikle asemptomatik bir durumdur. Paratiroidektomi normal serum kalsiyum düzeyi ile sonuçlanmaz ve aktif tedavi endikasyonu yoktur. Ailevi benign hipokalsiürik hiperkalsemi'nin primer hiperparatiroidi'den ayırıcı tanısı için serum kalsiyum, intakt PTH, magnezyum ve açlık idrar kalsiyum atılımının ölçülmesi gerekmektedir. Aile bireylerinin hiperkalsemi yönünden taranması ve nadiren CaR gen mutasyonlarının aranması gerekebilmektedir.

Neonatal ağır hiperparatiroidizm hiperkalsemi, (genellikle) çok yüksek serum PTH konsantrasyonu, subperiostal erozyonlar ve kırıklar ile ortaya çıkabilir. Hafif olgular medikal olarak tedavi edilebilirler fakat solunum yetmezliği, aşırı hiperkalsemi ve büyüme geriliği erken paratiroidektomi endikasyonlarıdır.

Otozomal dominant hipokalsiürik hipokalsemi asemptomatik hipokalsemiye neden olabilir fakat bazı etkilenen aile bireylerinin hafif belirtileri vardır ve çok azı süt çocukluğu

döneminde nöbet geçirmektedir ve bu nöbetler erişkin yaşlarında tekrarlayabilmektedir. Daha önceden idiyopatik hiperparatiroidizm olarak rapor edilmiş olguların önemli bir kısmı muhtemelen CaR gen mutasyonlarına bağlı gelişen hastalıklardır. Diğer herhangi bir nedeni olmayan orta derece hipokalsemi, yüksek idrar kalsiyum: kreatinin oranı birinci derece akrabalarında hipokalsemi varlığında otozomal dominant hiperkalsiürik hipokalsemiyi düşündürmelidir. Vitamin D analogları ile tedavi edildiklerinde serum ve idrar kalsiyum düzeyleri takip edilmelidir.<sup>95</sup>

Daha ilginç olan güncel bir konu ise genel popülasyonda CaR gen polimorfizmi ve böbrek kalsiyum eksekresyonu ile olan ilişki ile ilgili araştırmalardır. Vezzoli ve arkadaşları R990G polimorfizminin primer hiperkalsiüri ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada arginin'in glisin ile yer değiştirdiği A2968G allelinin G varyantına sahip kadınlarda artmış hiperkalsiüri riski olduğunu saptamışlar. Primer hiperkalsiüri olup böbrek taş hastalığı öyküsü olmayan kadınlarda 990G varyant allel taşıyıcılığı daha sık olduğu ve bu allelin homozigot ve heterozigot taşıyıcılarının hiperkalsiüri için 5.2 misli risk taşıdığı saptanmış. Ayrıca Vezzoli ve arkadaşları 990G varyant allelin CaR fonksiyonunda artış ile ilişkili olduğunu da gösterdiler. Bunu 990G varyant allelin aktarılmış insan embriyonik böbrek hücrelerinde hücre dışı kalsiyum konsantrasyonuna daha az hücre içi kalsiyum yanıtı elde ederek kanıtladılar. Biyoinformatik yaklaşım kullanılması ile elde ettikleri bilgiler arginin'in glisin ile yer değiştirmesinin CaR protein'in sekonder yapısında önemli bir değişikliğe neden olduğuna işaret etmektedir.<sup>4</sup>

990G allelinin primer ve sekonder hiperparatiroidi olmaksızın hiperkalsiüri ve taş oluşumu ilişkili olduğuna dair çalışmalar<sup>30 96 97 98 99 100</sup> olmakla beraber diğer çalışmalar ile bu ilişki doğrulanamamıştır.<sup>101 102</sup>

Taş oluşumu olmayan sporadik primer hiperkalsiüri olgular ve hiperparatiroidi olsun veya olmasın böbrek taş hastalığı olan hiperkalsiüri olguların tek bir hastalık olduğu kesin değildir. 990G allelinin düşük frekansta olması nedeni ile çoğu çalışma nedensellik ilişkisini kuramamaktadır. Hiperparatiroidi olsun ya da olmasın hiperkalsiüri ve böbrek taş hastalığı ile ilgili yapılmış çalışmalarda; 990G alleli düşük PTH ve/veya serum kalsiyum ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar paratiroid ve böbrek tübüllerinin hücre dışı kalsiyuma artmış duyarlılığına işaret etmektedir. Bununla beraber Vezzoli ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 990G alleli taşıyan kadınlarda normal serum kalsiyum ve PTH düzeyleri olmasına karşın hiperkalsiüri olduğu saptamışlardır. Bu sonuç 990G'nin böbrek tübüllerindeki doku

duyarlılığının paratiroid dokusundan farklı olabileceğini düşündürmektedir. Aynı şekilde kemik ve barsak hücrelerinde de benzer farklı fonksiyonel sonuçlarının olabileceği düşünülmektedir.

## **2.7 Kalsimimetikler ve Kalsilitikler**

### **2.7.1 Kalsimimetikler**

CaR'ın keşfinden sonra ilgi reseptörün fonksiyonlarını değiştirebilecek bileşikler üzerine odaklanmış ve bu sayede primer ve sekonder hiperparatiroidizmin medikal tedavisi için kullanılabilir yeni bileşiklerin elde edilmesi amaçlanmıştır. Kalsiyum duyarlı reseptörün tanımlanmasından yaklaşık on yıl sonra CaR fonksiyonlarının değiştiren bileşikler klinik uygulamaya girmiştir. İlk bileşikler hücre dışı kalsiyum etkilerini taklit ettiğinden tip I kalsimimetikler olarak adlandırılmışlardır. Kalsiyum ve diğer divalen ve trivalan katyonlar, spermine, aminoglikozid antibiyotikler ve bazı polivalan aminoasitler ve peptitler tip I kalsimimetikleri oluştururlar. İkinci bileşikler ise CaR'ın yapısal konformasyonunu değiştirerek hücre dışı kalsiyuma karşı steroselektiviteyi artırdıkları için tip II kalsimimetikler diye adlandırılmışlardır (Tablo 2). Tip II kalsimimetikler hücre dışı kalsiyum yokluğunda etkilerini kaybederler ve hücre dışı kalsiyum'un etkilerini gerçekte taklit etmezler; bundan dolayı kalsimimetik olarak adlandırılmaları muhtemelen uygun olmamakta ve "Pozitif allosterik CaR modölatörleri" şeklinde adlandırılmaları gerektiği öne sürülmektedir.<sup>103</sup> Tip II kalsimimetikler için ilk geliştirilen prototip bileşik NPS R-568'dir. Öngörülemeyen farmakodinamik özellikleri nedeni ile yerini cinacalcet'e (AMG 073) bırakmıştır.

### **2.7.2 Kalsilitikler**

Kalsilitikler CaR'ın kalsiyuma olan duyarlılığını azaltarak PTH sekresyonunda artışa neden olurlar. Kemiğin yeniden şekillenmesi üzerine PTH'nın çok güçlü bir etkisi vardır. Süreğen yüksek PTH düzeyleri kemik üzerine rezorpsiyon lehine olan net katabolik etki gösterir. Kısa süreli ani yükselmeler şeklindeki PTH artışları ise formasyon lehine etki ederek anabolik etki oluşturur. PTH'nın bu zıt etkileri tedavi uygulaması olarak denenmiş; aralıklı bolus şeklinde sentetik PTH uygulaması osteoporozda kemik kütlelerinde artış ve kırık oranlarında azalma sağlamıştır.<sup>104</sup> Kalsilitiklerin aralıklı uygulanması endojen PTH'nın bu siklik paternini taklit ederek anabolik etkilerinin katabolik etkilerine göre baskın olmasını sağlayabilir.

<b>Tablo 2: CaR agonist ve antagonistleri</b>		
<b>TİP I KALSİMİMETİKLER</b>	<b>TİP II KALSİMİMETİKLER</b>	<b>KALSİLİTİKLER</b>
<b>İnorganik katyonlar</b> Kalsiyum Magnezyum Lanthanum Gadolinium Aluminyum Baryum Kadmiyum Nikel Kobalt Demir Kurşun	NPS R-467 NPS S-467 NPS R-568 NPS S-568 AMG 073 KRN568	NPS 2143
<b>Poliaminler</b> Spermin Spermidine Pentaetilenheksamin Heksasiklin		
<b>“Aminosides”</b> Streptomisin Beknamisin Gentamisin Neomisin		
<b>Polibazik amino asitler ve diğer peptitler</b> Protamin Polilizin Poliarginin		

Osteopenisi olan iki taraflı over eksizyonu uygulanmış sıçanlarda yapılmış bir çalışmada kalsilitik ajan olarak ağızdan NPS 2143 uygulanmasının kan PTH düzeyinde süregelen artış sağladığı ve bunun sonucunda kemik dönüşümünün dramatik olarak hızlandığı fakat net kemik yoğunluğunda değişiklik olmadığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada NPS 2143 ile eş zamanlı cilt altı infüzyon şeklinde 17 beta estradiol uygulamasının da artmış kemik dönüşümü ile sonuçlandığı fakat östrojenin antirezorptif etkisi ile artmış PTH tarafından uyarılmış olan aşırı kemik rezorpsiyonu azaldığı ve kemik kütlelerinde artış olduğu saptanmıştır.<sup>105</sup> Bu veriler paratiroid hücresindeki CaR'ün kalsilitikler tarafından kalsiyum duyarlılığının azaltılması sonucu kemik dönüşümünde dramatik bir artışa neden olan endojen PTH sekresyonuna neden olduğu göstermiştir. Bu konuda yapılacak çalışmaların osteoporoz tedavisinde yeni yaklaşımlar getireceği düşünülmektedir.

## **2.8 Kalsimimetiklerin klinik kullanımı**



Kalsimimetik ajanlar normal böbrek fonksiyonları olan sağlıklı bireylerde çalışılmıştır. Lalonde ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 18 postmenapozal kadına randomize olarak bir gruba artan dozlarda (10 - 400 mg/gün) kalsimimetik olarak NPS R-568 ve diğer gruba da plasebo vererek intakt PTH düşüş düzeyini değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak bazal değerden doz sonrası 30–120 dakikalarda intakt PTH düzeyinde 10 mg NPS R-568 dozunda %34, 400 mg NPS R-568 dozunda %74 düşüş saptanmıştır. PTH supresyonunun süresi doz bağımlı olarak ortalama 12 saatte sonlanırken, PTH düşüklüğü ile beraber plazma kalsiyum konsantrasyonunda da istikrarlı bir düşüş olduğu gözlemlenmiştir.<sup>106</sup>

NPS R-568 ayrıca primer hiperparatiroidizmlili hastalarda da denenmiştir. Yirmi postmenapozal kadına, randomize plasebo kontrollü bir çalışmada 4 ile 160 mg arasında tek doz NPS R-568 uygulanmış; etkili minimal doz 20 mg PTH düzeyinde % 26 düşüş sağlamıştır. Seksen ve 160 mg dozları PTH'yı sırası ile % 42 ve % 51 düşürmüştür. En düşük serum PTH düzeyleri 80 ve 160 mg dozlarda uygulamadan 2 saat sonra gözlenmiş ve bazal değere dönmeleri uygulamadan 4-8 saat sonra olmuştur. Serum iyonize kalsiyum düzeyi 160 mg doz uygulanmasından dört saat sonra hafifçe düşmüştür. Benzer şekilde idrar kalsiyum atılımı 160 mg doz uygulanmasını takiben 2. saatte 2,3 oranında artmış ve bazal değerine 8 saat sonra dönmüştür.<sup>107</sup>

Sekonder hiperparatiroidizmlili diyaliz hastalarında NPS R-568 kullanımına dair yapılan çalışmalardan birinde hafif hiperparatiroidizmi olan yedi hastaya iki gün 40–80 mg dozlarda NPS R -568 uygulanmıştır. İlk dozdan sonra yedi hastanın beşinde PTH düzeyinde >%30, ikinci dozdan sonra yedi hastanın altısında >%60 düşüş sağlanmıştır. Yüz yirmi ve 200 mg dozları ile ilk doz sonrası PTH değerleri yedi hastanın altısında >%60 düşüş sağlanmıştır. Yirmi dört saat sonra PTH değerleri başlangıç seviyesine göre hala %50 daha düşük bulunmuştur. Kan kalsiyum düzeyinde düşük dozlar sonrasında önemli bir azalma olmamasına rağmen yüksek dozlardan sonra önemli oranlarda azalma gözlenmiştir. Hastaların serum kalsitonin düzeyleri yüksek doz sonrası 4. saatte iki misli artmış ve 48 saat sonra normale dönmüştür.<sup>108</sup> Diğer bir çalışmada orta derecede sekonder hiperparatiroidizmi ( PTH 300–1200 pg/mL) olan 21 hemodiyaliz hastasından 16'sına 15 gün süre ile 100 mg/gün oral NPS R-568 ve beşine plasebo verilmiştir. Çalışma grubundaki hastaların ilk dozdan bir, iki ve dört saat sonra bazal değere göre serum PTH düzeyi sırası ile %66, % 78 ve % 70 düşük bulunmuştur ve takip eden 24 saatte de önemli oranda düşük kalmıştır. Düşük iyonize kalsiyum değerlerine rağmen doz öncesi PTH düzeylerinde ilk dokuz gün boyunca progresif

olarak düşüş gözlenmiştir. Plasebo grubuna karşın tedavi grubunda PTH düzeyi çalışma boyunca düşük kaldığı saptanmıştır. Serum total kalsiyum ve kan iyonize kalsiyum düzeyi plasebo grubunda değişmemesine karşın tedavi grubunda tedavi öncesi düzeylerine göre düşük bulunmuştur. Kan iyonize kalsiyum düzeyi 16 hastanın yedisinde 1,0 mmol/L'nın altına düşmüştür. Beş hasta semptomatik hipokalsemi gelişmesi nedeni ile çalışmadan çıkarılmış, üç hasta ancak doz azaltılarak çalışmayı tamamlayabilmiştir. Bu çalışmanın ilgi çekici bir noktası NPS R—568'in farmakokinetik verileridir. Tek doz sonrası azami plazma ilaç konsantrasyonları bir ile 24 saat arsında geniş bir aralıkta saptanmıştır. Pik plazma konsantrasyonları genellikle 2,5 ve 4,4. saatler arasında (0,42–42,2 ng/mL) saptanmıştır. NPS R -568'in biyoyararlanımının çok düşük olduğu (<0%1) görülmüştür.<sup>109</sup>

Kötü farmakokinetik profili ve diğer ilaçlar ile etkileşimi nedeni ile R-568 ile ilgili çalışmalar sonlandırıldıktan sonra yeni bir ikinci kuşak kalsimimetik ajan olan AMG 073 (Cincacalcet HCl) geliştirilmiştir. AMG 073 ile yapılan ilk klinik çalışmalar sekonder hiperparatiroidizmlili hemodiyaliz hastalarının tedavisi için umut vaat eden sonuçlar vermiştir.

Sekonder hipertiroidizmlili diyaliz hastalarında yapılmış randomize, çift kör, plasebo kontrollü bir çalışmada ardışık altı doz (5, 10, 25, 50, 75 ve 100 mg AMG 073 veya plasebo) uygulanmıştır. Yirmi beş, 50, 75 ve 100 mg dozlarında plazma intact paratiroid hormon (iPTH) düzeylerinde doz ilişkili olarak ilaç uygulanmasından sonra iki ve dördüncü saatlerinde maksimum baskılanma gözlenmiştir. Takip eden 24 saat içinde PTH düzeyinde normal değerlerin altında kalmakla beraber yavaş bir düzelme saptanmıştır. Tek doz 75 ve 100 mg AMG 073 ile sırası ile serum kalsiyum düzeyi sırası ile %8,3 ve %9,4 azaltmıştır.<sup>110</sup> Goodman ve arkadaşları tarafından 10, 25 ve 50 mg AMG 073 sabit dozda, ardışık 8 gün, plazma intact PTH düzeyleri  $\geq 250$  pg/mL ve  $\leq 1500$  pg/mL arasında olan hemodiyaliz hastalarına verilmiştir. Yirmi beş ve 50 mg dozları azalmış iPTH düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur. Elli mg doz azalmış ortalama serum kalsiyum düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur. Sekizinci gün serum fosfor düzeyleri ve kalsiyum x fosfor sonuçları tüm tedavi gruplarında bazal değere göre düşük bulunmuştur.<sup>111</sup>

Lindberg ve arkadaşları tarafından AMG 073'ün etkinliği ve güvenirliliği 12 hafta doz titrasyonu yapılarak 10, 20, 30, 40 ve 50 mg AMG 073 kullanılarak yapılan çift kör plasebo kontrollü 18 haftalık bir çalışmada gösterilmiştir.<sup>112</sup> Bir önceki çalışmadaki iyi güvenlik profili nedeni ile Quarles ve ark. AMG 073 dozunu 100 mg/gün'e kadar titre ederek hemodiyaliz hastalarında etkinliğini değerlendirmişlerdir. Bazal iPTH düzeyleri  $625\pm 310$

pg/mL olan 36 hastaya AMG 073 ve bazal iPTH düzeyleri 582±421 pg/mL olan 30 hastaya plasebo uygulanması sonrasında tedavi grubunda iPTH düzeyi idame döneminde %32,5 azalırken plasebo grubunda %3,0 artış gözlenmiştir. Kalsiyum x fosfor tedavi grubunda çalışma sonunda bazal değere göre %7,9 azalırken plasebo grubunda %11,0 artış saptanmıştır. Ayrıca tedavi grubunda serum kalsiyum düzeyleri %4,6 azalmasına rağmen mutlak kalsiyum düzeyleri normal sınırlarda kaldığı gözlenmiştir.<sup>113</sup> AMG 073'ün etkinliği ve güvenilirliği daha büyük hasta sayıları ile yapılmış randomize plasebo kontrollü diğer çalışmalarda da gösterilmiştir.<sup>114 115</sup>

Kalsiyum duyarlı reseptörün klonlanması ve CaR'ünün pozitif allosterik modölatörlerinin geliştirilmesi ile paratiroid bezlerin artmış fonksiyon ve/veya azalmış fonksiyonu ile ilişkili hastalıkların tıbbi tedavisi radikal değişimlere açık hale gelmiştir. Birinci kuşak kalsimimetikler göstermiştir ki primer ve sekonder hiperparatiroidizm güvenli bir şekilde önlenbilir veya azaltılabilir. Bununla birlikte bu bileşiklerin zayıf biyoyararlanımları ve metabolizmalarında bireyler arasındaki gözlenen değişkenlikler klinik kullanımlarının geliştirilmesine engel olmuştur. Doz titrasyonu aşamasında geçici hipokalsemi dışında ciddi istenmeyen etkisi olmayan AMG 073 (Cinacalcet HCl) ile elde edilen veriler oldukça cesaret vericidir.

Yakın zamanda ABD Gıda ve İlaç Kurumu ve "European Medicines Agency" tarafından cinacalcet HCl'ün sekonder hiperparatiroidizmi diyaliz hastaları ile paratiroid karsinomlu hastalarda kullanımı onaylandı. Amgen tarafından üretilen cinacalcet HCl Sensipar® ticari ismi ile Amerika Birleşik Devletleri'nde (Amgen Inc., Thousand Oaks, CA) ve Mimpara® (Amgen Inc.) ticari ismi ile Avrupa'da pazarlanmaktadır.

Bununla birlikte Cinacalcet HCl'ün neden olabileceği diğer kemik ve mineral metabolizması bozukluklarına dikkat etmek gerekmektedir. Aşırı PTH baskılanmasına bağlı olarak aralarında adinamik kemik hastalığı veya kemik dönüşümünde azalmaya bağlı diğer lezyonların gelişmesi olasıdır.<sup>103 116</sup> Devam eden kemik histolojisi çalışmaları bu konudaki sorulara yanıt verecektir.

İlgi çekici diğer bir konuda kalsimimetikler aracılığı ile PTH'nın geçici ve aralıklı baskılanmasının kemik üzerine kemik mineral yoğunluğunda stabilizasyon veya artış sağlayabilecek anabolik etkisinin olabileceğidir.

### **Tablo 3. Kalsiyum reseptör modölatörlerinin potansiyel tıbbi kullanım alanları**

Paratiroidler  
Kalıtsal paratiroid hastalıkları  
Primer Hiperparatiroidizm  
Sekonder hiperparatiroidizm  
Paratiroid karsinomları  
Paratiroidektomi cerrahisi başarısızlıkları  
Ektopik paratiroid bezi lokalizasyonları  
Paratiromatozis  
Paratiroid cerrahisinin reddi  
Cerrahi kontrendikasyonları  
Kardiyovasküler  
Arteriyel hipertansiyon  
Kalsifilaksis  
Böbrek  
Diüretik  
Yavaş ilerleyen kronik böbrek yetmezliği

### **3.0 GEREÇ VE YÖNTEM**

### 3.1 Deney Hayvanları

Bu çalışmada literatürde benzer model olması nedeni ile Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Multidisipliner Laboratuvar ve Laboratuvar Hayvanlarının Sağlık Bilimlerinde Kullanımı A.B.D.'dan temin edilen ortalama ağırlıkları  $123,7 \pm 5,6$  gr olan on dört adet altı haftalık dişi Sprague-Dawley ırkı sıçan kullanıldı.<sup>92 117</sup> Deney hayvanları 12 saat ışık 12 saat karanlık ritminde ışıklandırılan,  $22 \pm 2$  °C'deki odalarda, standart pelet yem (Tariş Yemta Yem Hayvancılık San. Tic. A.Ş. Yem Fabrikası, İzmir) ile beslendi, suya serbestçe ulaşabilmeleri sağlandı.

### 3.2 Deney hayvanları grupları

Sıçanlar rastgele seçilerek, her biri 7 sıçan içeren iki grup oluşturuldu.

Çalışma grubu (n=7): Cinacalcet uygulanan sıçan grubu

Kontrol grubu (n=7): Plasebo (distile su) uygulanan sıçan grubu

### 3.3 Cinacalcet HCl

Çalışmada cinacalcet HCl (Mimpara® 30 mg tablet, Amgen Inc.) kullanıldı. Normal sıçanlarda serum PTH düzeyini yaklaşık 24 saat süre ile baskılayabiliyor olmasından dolayı 25mg/kg dozu seçildi.<sup>118</sup>

### 3.4 Orogastrik gavaj ile cinacalcet HCl veya distile su uygulanması

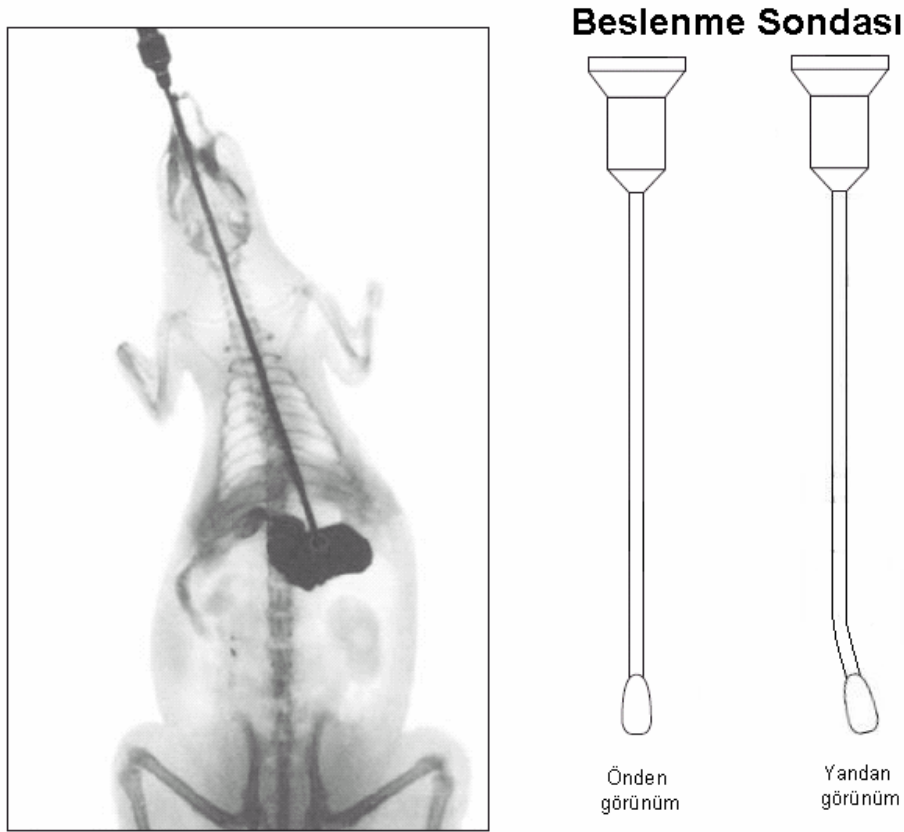
Cinacalcet HCl, ticari tabletlerin distile su içinde çözülmesi ile elde edilen çözelti halinde 0,6-0,8 ml hacminde oral gavaj ile çalışma grubundaki sıçanlara uygulandı. Plasebo olarak eşit hacimde distile su aynı yöntem ile kontrol grubuna uygulandı (Şekil 9).

### 3.5 Çalışma Planı

Birinci gruptaki sıçanlara 21 gün süre ile saat 08.00'da 25 mg/kg cinacalcet uygulandı. İkinci gruptaki sıçanlara aynı saatte oral gavaj distile su verildi. Haftalık olarak deney hayvanlarının ağırlıkları ölçüldü. Sıçanlardan çalışmanın 20. günü 24 saatlik idrar toplandı. Deney hayvanları 21 günlük çalışma planı gereğince uygulanan oral gavaj uygulamasını iyi tolere ettiler. Tüm sıçanlar çalışmanın 21. günü cinacalcet ve distile su uygulamasından 6-8 saat sonra ketamin hidroklorid (40 mg/kg) ve ksilazin hidroklorid (5mg/kg) intraperitoneal uygulanarak anestezi sağlandıktan sonra sakrifiye edildi.

### 3.6 İdrar ve kan örneklerinin alınması

Tüm sıçanlardan çalışmanın 20. gününde sıçanlar tekli metabolik kafeslerde tutularak 24 saatlik idrar biriktirildi, ölçümler yapılıncaya kadar idrar örnekleri +4 derecede buzdolabında saklandı. Çalışmanın 21. günü ilaç ve plasebo uygulamasından 6 saat sonra ketamin ve ksilazin anestezisi altında aort kataterizasyonu ile kan örnekleme yapıldıktan sonra sakrifiye edildi. Kan örnekleri +4 derecede santrifüj edilerek elde edilen serum örnekleri biyokimyasal analizler yapılıncaya kadar -20 C de dondurularak saklandı.



**Şekil 9:** Orogastrik gavaj uygulaması

### 3.7 Doku örneklerinin alınması

Sakrifikasyon işleminden hemen sonra sol böbrek ve sol tibia diseke edildi. Yumuşak dokular ayrıldıktan sonra tibia ½ proksimali büyüme plağını içerecek şekilde ve sol böbrek morfometrik ve immünohistokimyasal inceleme için +4°C 'de formalin içinde fiske edildi.

### 3.8 İdrar analizleri

İdrar örneklerinden kreatinin, protein, Ca, fosfor, Mg, Na, K, Cl düzeyleri Hitachi P-800 (Roche Diagnostik) otoanalizöründe standart yöntemlerle ile tayin edildi.

### **3.9 Serum analizleri**

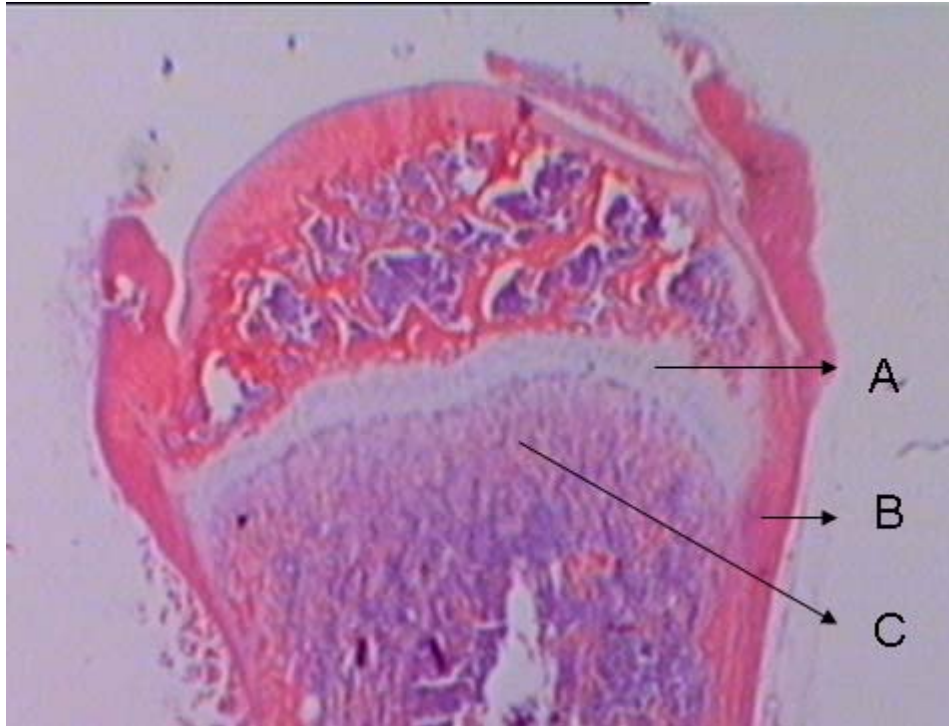
Serum örneklerinden kreatinin, BUN, protein, Ca, iyonize Ca, Mg, Na, K, Cl düzeyleri Hitachi P-800 (Roche Diagnostik) otoanalizöründe standart yöntemlerle ile tayin edildi. Serum 25-OH vitamin D düzeyleri radioimmunoassay yöntemi ile tayin edildi (25OH-Vit.D3-Ria-CT Kit, BioSource Europe, Belgium). Serum biyoaktif intakt PTH düzeyleri ELISA yöntemi ile tayin edildi (Rat BioActive Intact PTH ELISA Kit, Immotopics Inc., CA).

### **3.10 Histolojik değerlendirme**

Histopatolojik inceleme için sıçanlardan elde edilen böbrek ve kemik dokuları ışık mikroskopik incelemeler için %10'luk tamponlu formaldehid içinde fikse edilip parafine gömüldükten sonra hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler (Leica RM2225 Köln, Almanya) alındı. Bu kesitler hematoksilin-eozin, masson-trikrom üçlü boyası ile boyandı. Boyama işleminden sonra elde edilen kesitler ışık mikroskopik olarak incelendi (Olympus BH-2 Tokyo, Japonya) ve kesitlerden elde edilen görüntüler yüksek çözünürlüklü bir kamera (JVC TK-890E, Japonya) içeren bilgisayara aktararak dijital olarak fotoğrafları çekildi. Çekilen dijital fotoğraflar dijital görüntü analiz programı (UTSCSA; Image tool version 3,0) ile değerlendirildi. Kemik dokuları ışık mikroskopik incelenme öncesinde dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon işlemleri, formolde fikse edilen kemikler için EDTA+distile su+formaldehit (%37-40'lık) karışımında haftada bir solusyonun değiştirilmesi ile tamamlandı.

Elde edilen 5 µm'lik kemik dokusu kesitlerinden hematoksilin-eozin (H-E), masson-trikrom (M-T) boyamalarından elde edilen dijital görüntüler, histomorfometrik olarak büyüme kırıkdağının kalınlığı, kortikal kemik kalınlığı, osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, trabeküler kemik hacmi ve osteoid kemik hacmi ölçümleri için kullanıldı. Trabeküler ve osteoid kemik hacmi, osteoblast sayısı, osteoklast sayısı büyüme plağı ve metafizyel bileşkedeki proksimal tibia metafizine doğru 1-2 mm mesafedeki spongiöz kemik alanından yapıldı (Şekil 10). Büyüme kırıkdağı kalınlığı her bir kesit için rastlantısal olarak seçilmiş olan 20 alanda ölçüldü. Kortikal kemik kalınlığı için her kesitte büyüme plağının 1 mm proksimalinden ölçüm yapıldı.

Böbrek dokusundan elde edilen kesitlerde renal korpüsküle ait glomerüller mezangial hücre sayıları, ultramikrotom (Leica RM2225 Köln, Almanya) ile alınan 0,7 µm kalınlığındaki yarı ince kesitler Toluidin mavisi ile boyandı. Her deneğe ait en az üç kesitte en az 5 glomerülde mezengial hücreler sayılmıştır. Ayrıca ekstraglomerüler mezangial hücreler alınan 5 µm'lik kesitlerin hematoksilin-eozin ile boyanarak her deneğe ait afferent ve efferent arteriollerinden geçen kesitlerde en az 10 glomerül değerlendirilerek sayılmıştır.



**Şekil 10:** Histomorfometrik ölçümlerin yapıldığı alanlar; büyüme kıkırdağının kalınlığı (A), kortikal kemik kalınlığı (B), osteoid kemik hacmi, trabeküler kemik hacmi, osteoblast ve osteoklast sayısı (C). Boyama: H-E

### 3.11 İstatistik analiz

Tüm istatistiksel işlemler SPSS 11.0 istatistik programında yapıldı. Sayısal veriler ortalama ± standart deviasyon (SD) şeklinde sunuldu. İki bağımsız grubun karşılaştırılmasında *Mann Whitney U testi* kullanıldı. Gruplar arasında mononükleer hücre birikiminin karşılaştırılmasında *Fisher kesin ki-kare testi* kullanıldı. P değeri < 0,05 olması anlamlı fark olduğu şeklinde yorumlandı.



Çalışma 6ncesi Dokuz Eyl6l 6niversitesi Tıp Fak6ltesi Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulundan çalışmanın uygulanmasında etik açıdan sakınca olmadığına dair onay alındı (Karar Sayısı: 2007/124) (Ek 1).

## **4.0 BULGULAR**

### **4.1 Cinacalcet'in Ağırlık Artışı Üzerine Etkisi**

Çalışmanın başlangıcında cinacalcet ile tedavi edilecek çalışma grubundaki sıçanların ağırlıkları  $124,3 \pm 5,8$  g ve kontrol grubundaki sıçanların ağırlıkları  $122,5 \pm 5,2$  g olarak saptandı ( $p > 0,05$ ). Çalışma bitiminde cinacalcet verilen sıçanların ağırlıkları  $144,2 \pm 16,3$  g ve kontrol grubundaki sıçanların ağırlıkları  $138,8 \pm 8,4$  g saptandı ( $p > 0,05$ ). Çalışma başlangıcı ve bitiminde sıçanların ağırlıkları ile 100 gr vücut ağırlığı başına ağırlık artışları arasında istatistiksel fark saptanmadı (Tablo 4).

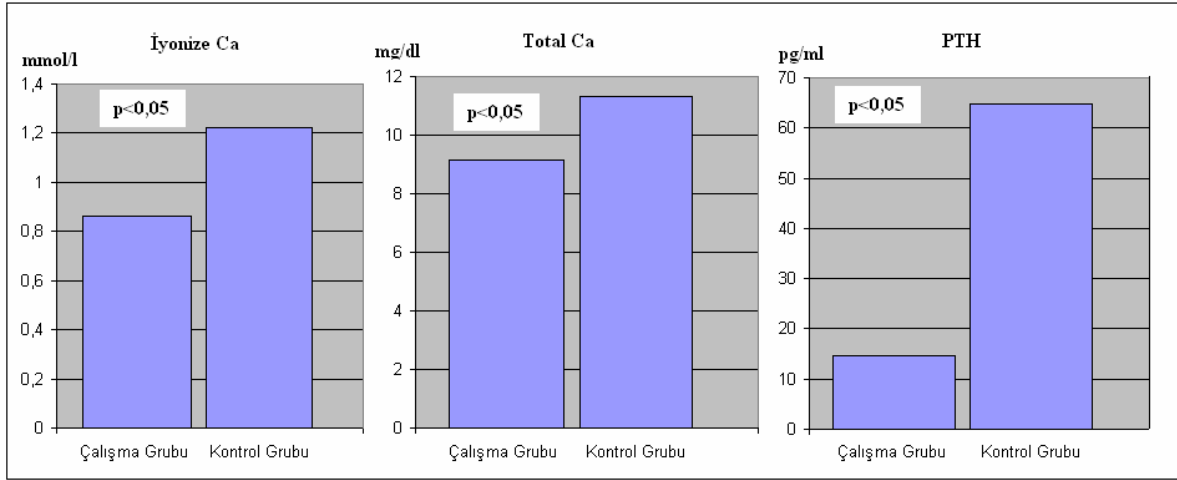
**Tablo 4: Cinacalcet 'in ağırlık artışı üzerine etkisi**

	<b>Çalışma grubu</b>	<b>Kontrol grubu</b>	<b>p</b>
<b>Çalışma başlangıcında ağırlıklar (g)</b>	$124,3 \pm 5,8$	$122,5 \pm 5,2$	0,535
<b>Çalışma bitiminde ağırlıklar (g)</b>	$144,2 \pm 16,3$	$138,8 \pm 8,4$	0,902
<b>100 gr vücut ağırlığı başına ağırlık artışı (g)</b>	$14,3 \pm 13,0$	$13,5 \pm 6,4$	0,902

### **4.2 Cinacalcet'in Böbrek Fonksiyonları Üzerine Etkisi**

#### **4.2.1 Serum biyokimyasal analiz sonuçları**

Çalışma bitiminde cinacalcet verilen sıçanlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum iyonize kalsiyum, total kalsiyum ve PTH düzeylerinin istatistiksel olarak daha düşük olduğu gözlemlendi (Tablo 5) (Şekil 9) ( $p > 0,05$ ). Serum fosfor, sodyum, potasyum, kan üre azotu, kreatinin, magnezyum, total protein ve 25-OH vitamin D düzeyleri arasında fark saptanmadı (Tablo 5) ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 11:** Cinacalcet'in serum iyonize kalsiyum, total kalsiyum, PTH üzerine etkisi

**Tablo 5:** Çalışma ve kontrol grubunun serum biyokimyasal değerlerinin karşılaştırılması

	Çalışma grubu	Kontrol grubu	p
<b>İyonize Kalsiyum (mmol/l)</b>	0,86±0,08	1,22±0,15	<b>0,001</b>
<b>Total kalsiyum (mg/dl)</b>	9,17±0,61	11,30±0,46	<b>0,001</b>
<b>Fosfor (mg/dl)</b>	7,80±1,24	6,99±0,93	0,209
<b>PTH (pg/ml)</b>	14,6±7,5	64,9±31,4	<b>0,001</b>
<b>25-OH vitamin D (ng/ml)</b>	42,1±13,6	37,7±9,3	0,456
<b>BUN (mg/dl)</b>	19,6±2,3	21,4±3,1	0,165
<b>Kreatinin (mg/dl)</b>	0,53±0,03	0,53±0,03	0,805
<b>Sodyum (mmol/l)</b>	139,4±0,1	138,3±1,3	0,318
<b>Potasyum (mmol/l)</b>	4,79±0,33	4,67±0,25	0,318
<b>Klor (mmol/l)</b>	98,3±1,1	100,3±1,5	<b>0,017</b>
<b>Magnezyum (mmol/l)</b>	0,96±0,10	1,06±0,10	0,128
<b>Total protein (gr/dl)</b>	7,6±0,4	7,6±0,2	0,097

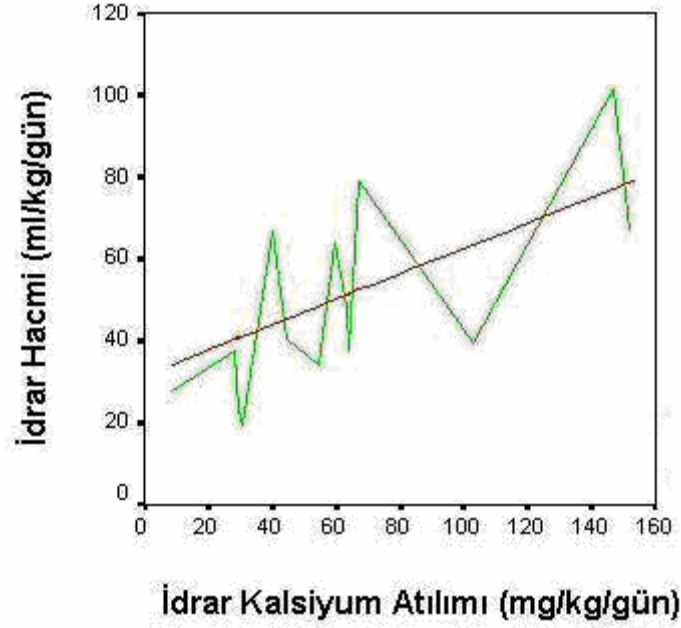
#### 4.2.2 İdrar biyokimyasal analiz sonuçları ve idrar hacmi

Cinacalcet verilen sıçanların 24 saatlik idrar hacimleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak daha fazla olduğu gözlemlendi ( $p < 0,05$ ) (Tablo 6). Gruplar arasında Tmp/GFR değerleri çalışma grubunda daha yüksek olmakla beraber istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ) (Tablo 6). Cinacalcet verilen sıçanların 24 saatlik idrar analizinde kalsiyum atılımında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ortalama

kalsiyum atılımında %50'lik bir artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ) (Tablo 6). İdrar kalsiyum atılımı ve idrar hacimleri arasında pozitif ilişki saptandı ( $r^2 = 0,399$ ,  $p < 0,05$ ) (Şekil 10). İdrar ile atılan kalsiyumun serum kalsiyumuna oranı çalışma grubunda yüksek olarak bulundu ( $p < 0,05$ ) (Tablo 6). Fraksiyonel sodyum ve fraksiyonel klor atılımının çalışma grubunda kontrol grubuna göre artmış olduğu saptandı ( $p < 0,05$ ,  $p = 0,05$ ) (Tablo 6). Magnezyum atılımı ve proteinüri açısından fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ) (Tablo 6).

**Tablo 6:** Çalışma ve kontrol grubunun idrar hacmi ve biyokimyasal değerlerinin karşılaştırılması

	<b>Çalışma grubu</b>	<b>Kontrol grubu</b>	<b>p</b>
<b>Ca atılımı (mg/gün)</b>	11,04±7,42	7,05±4,44	0,318
<b>Ca atılımı (mg/kg/gün)</b>	76,9±51,1	50,6±30,8	0,456
<b>FeCa atılımı %</b>	28,0±13,7	23,3±10,8	0,805
<b>İdrar Ca atılımı (mg/kg/gün) / serum (mg/dl) Ca</b>	8,73±5,25	4,64±2,84	<b>0,006</b>
<b>TmP/GFR* (mg/dl)</b>	7,55±1,36	6,93±0,92	0,535
<b>Mg atılımı (mmol/kg/gün)</b>	17,61±5,84	13,32±5,29	0,318
<b>FeMg atılımı %</b>	56,0±12,7	55,9±11,4	0,999
<b>Protein atılımı (mg/kg/gün)</b>	27,2±15,4	19,8±10,4	0,318
<b>Sodyum atılımı (mmol/kg/gün)</b>	118,3±37,5	57,0±26,2	<b>0,004</b>
<b>FeNa atılımı %</b>	1,82±0,42	1,28±0,35	<b>0,026</b>
<b>Cl atılımı (mmol/kg/gün)</b>	149,4±55,2	73,1±28,8	<b>0,011</b>
<b>FeCl atılımı %</b>	3,22±0,87	2,27±0,43	0,053
<b>Kreatinin klirensi (ml/dk)</b>	0,49±0,20	0,31±0,10	0,097
<b>İdrar hacmi (ml/kg/gün)</b>	65,6±18,9	31,7±9,1	<b>0,001</b>



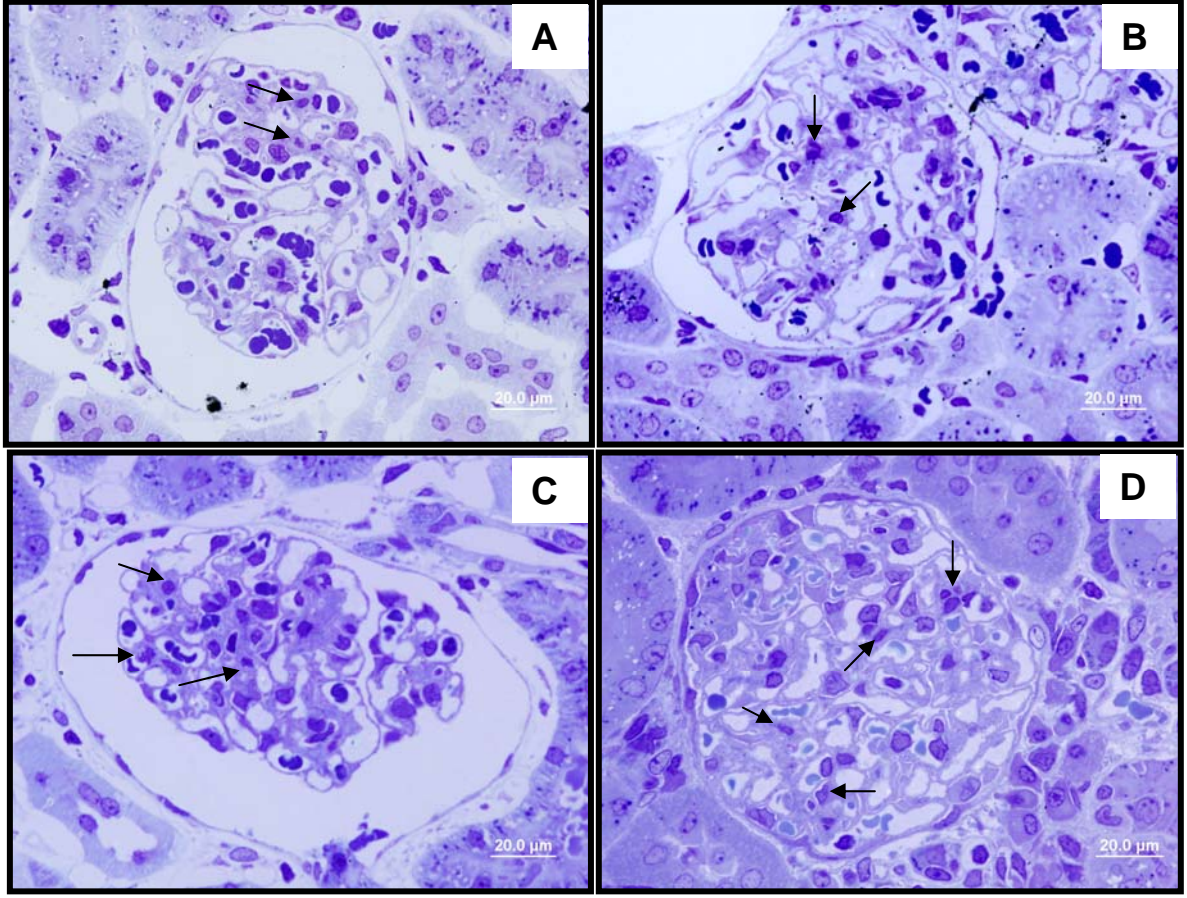
**Şekil 12:** İdrar kalsiyum atılımı ve idrar hacmi ilişkisi ( $r^2= 0,399$ ,  $p < 0,05$ ).

#### 4.3 Cinacalcet'in Böbrek Mezangial Hücre Çoğalması Üzerine Etkisi

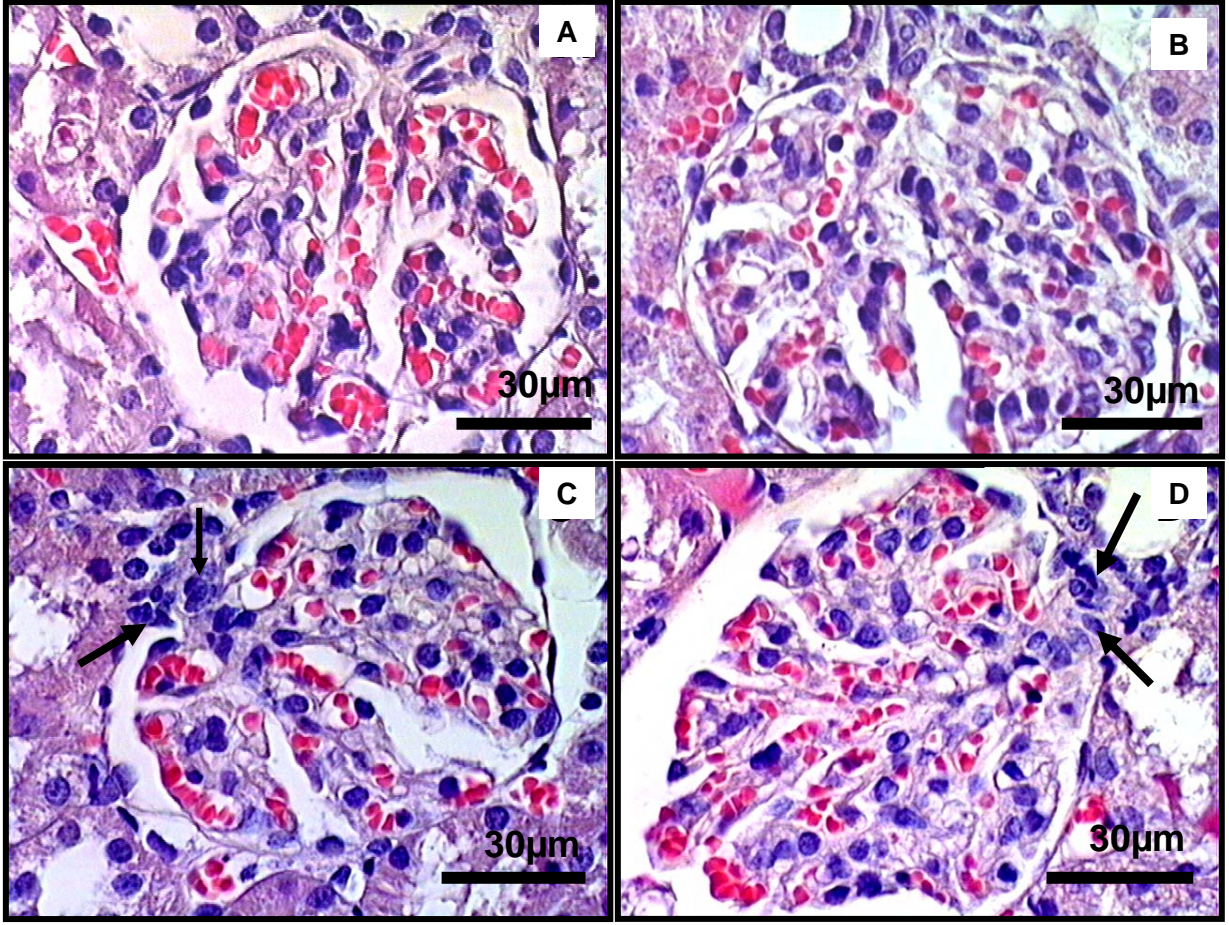
Çalışma grubunda ortalama glomerüler mezangial hücre sayısı 7,42 iken kontrol grubunda 4,87 olduğu saptandı ( $p < 0,05$ ) (Tablo 7) (Şekil 13). Çalışma grubunda ortalama ekstraglomerüler mezangial hücre sayısı 4,28 iken kontrol grubunda 2,15 olduğu saptandı ( $p < 0,05$ ) (Tablo 7) (Şekil 14). Çalışma grubundaki 4 kontrol grubunda 1 sıçan'nın böbrek kesitlerinde mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değil idi ( $P=0.266$ ) (Şekil 15).

**Tablo 7:** Böbrek mezangial hücre sayısı (MHS)

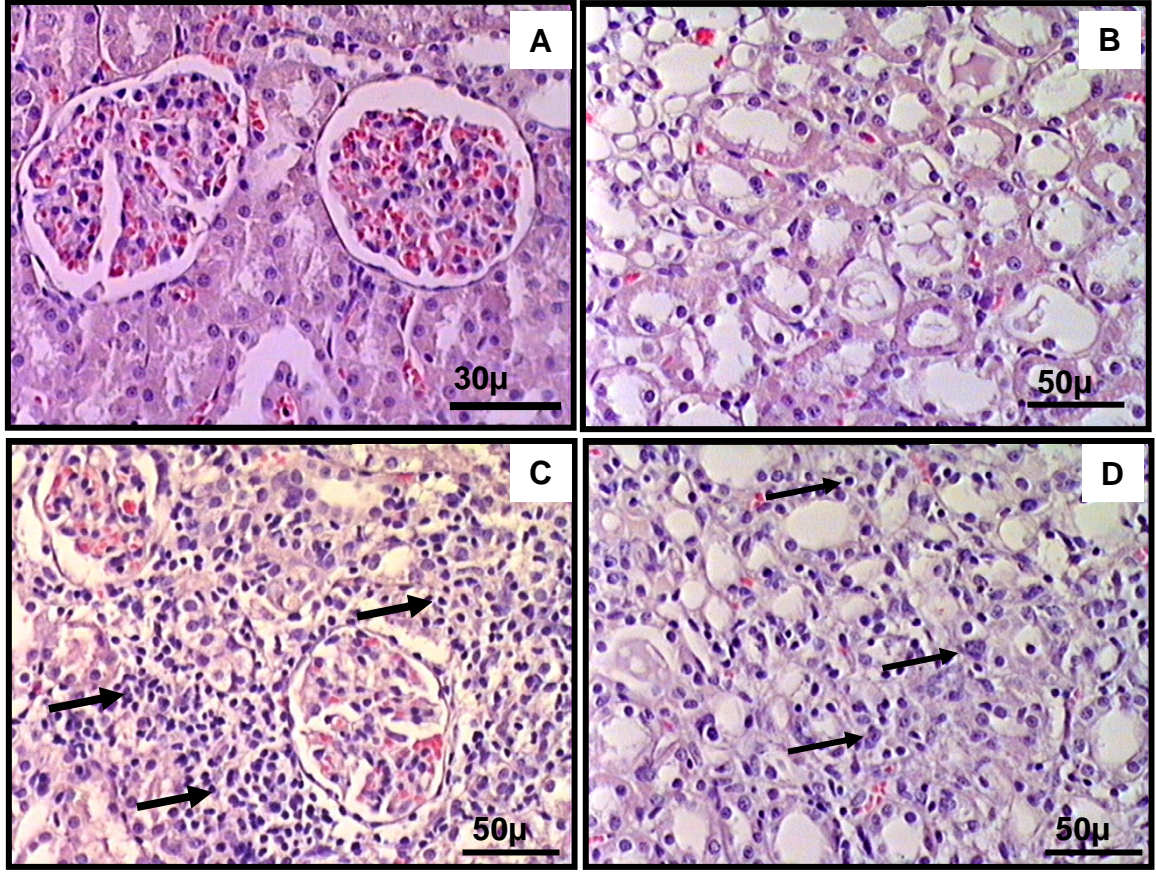
	Çalışma Grubu	Kontrol Grubu	p
<b>Glomerüler MHS</b>			
Ortalama	7,42	4,87	<b>0,001</b>
(minimum-maksimum)	(7,00-8,13)	(4,50-5,17)	
<b>Ekstraglomerüler MHS</b>			
Ortalama	4,28	2,15	<b>0,001</b>
(minimum-maksimum)	(2,95-5,83)	( 1,10-3,00)	



**Şekil 13:** Böbrek dokusunda glomerüler mezangial hücre sayısının değerlendirildiği böbrek kesitlerinden örnekler. Kontrol grubu “A,B”, çalışma grubu “C, D”, oklar mezangial hücreleri göstermektedir. Boyama: Toluidin mavisi



**Şekil 14:** Böbrek dokusunda ekstraglomerüler mezangial hücre sayısının değerlendirildiği böbrek kesitlerinden örnekler. Kontrol grubunda böbrek korteksinde renal korpüskülün normal görünümü "A,B" Çalışma grubunda böbrek korteksinde renal korpüskülde artmış ekstraglomerüler mezangial hücreler "C, D". Boyama: H-E



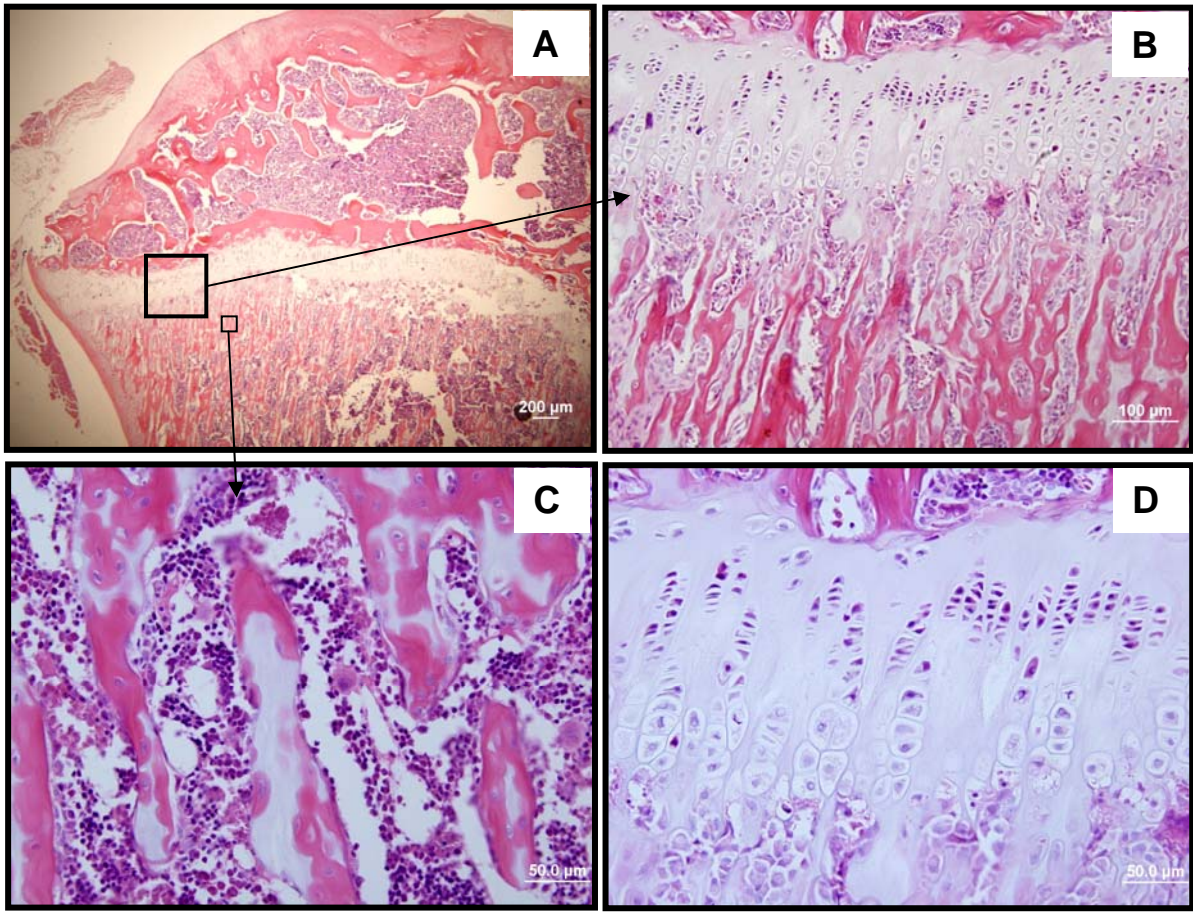
**Şekil 15:** Böbrek dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonunun izlendiği kesitlerden örnekler. Kontrol grubunda normal böbrek korteks ve medulla dokusu “A,B”, çalışma grubunda, böbrek korteksinde renal korpüskül çevresinde ve tübüller arasında intertisyel mononükleer hücre infiltrasyonu “C”, böbrek medullasında tübüller çevresinde intertisyel mononükleer hücre infiltrasyonu “D”. Boyama: H-E

#### 4.4 Cinacalcet’in Kemik Histomorfometriği Üzerine Etkisi

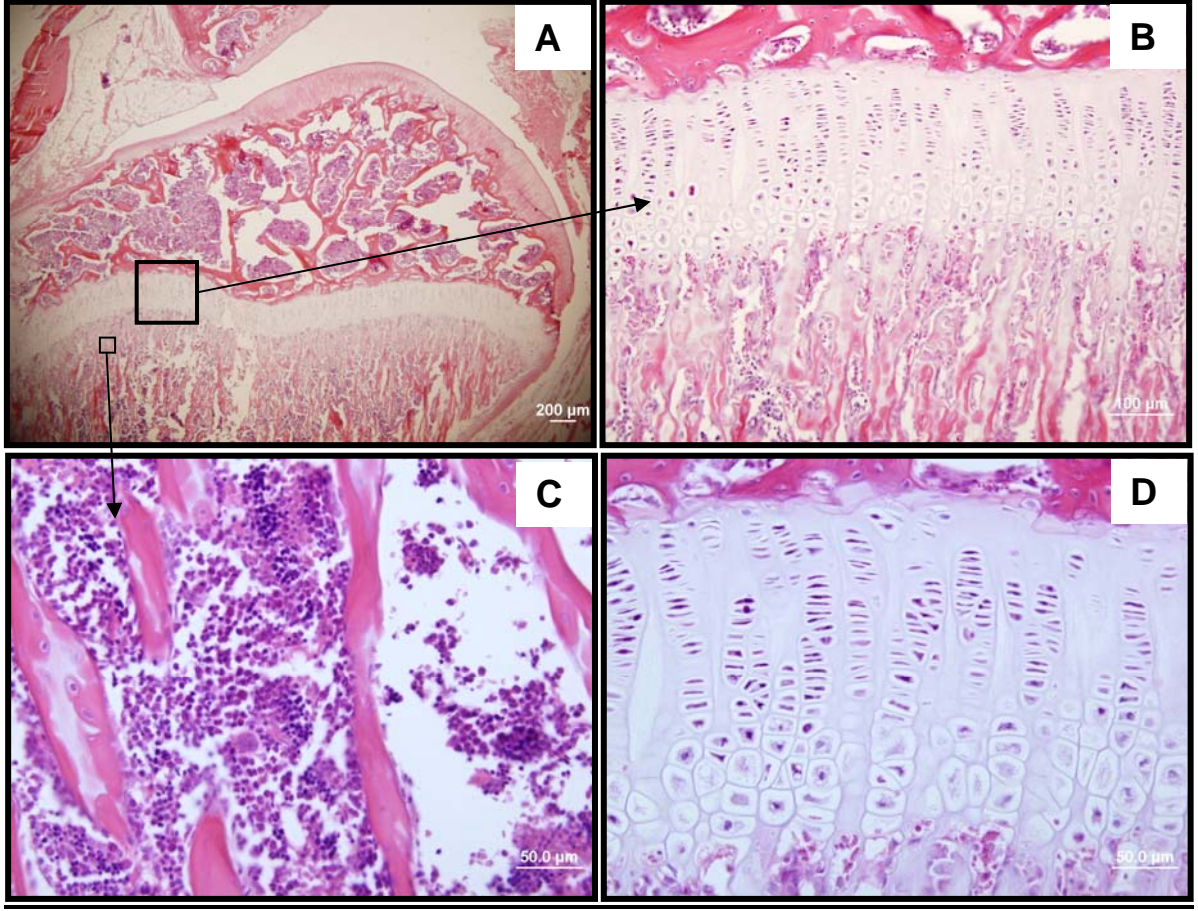
Büyüme plağı kalınlığı ve kortikal kemik kalınlığı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında cinacalcet ile tedavi edilen sıçanlarda artmış olduğu saptandı ( $p < 0,05$ ) (Şekil 16–18). Trabeküler kemik hacminin, osteoblast sayısı ve osteoklast sayısının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında cinacalcet ile tedavi edilen sıçanlarda azalmış olduğu saptandı ( $p < 0,05$ ) (Şekil 16–17). Osteoid hacmin sayısal olarak çalışma grubunda daha düşük olduğu saptanmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak sınırda anlamlı bulundu. ( $p = 0,056$ ) (Şekil 16–17).



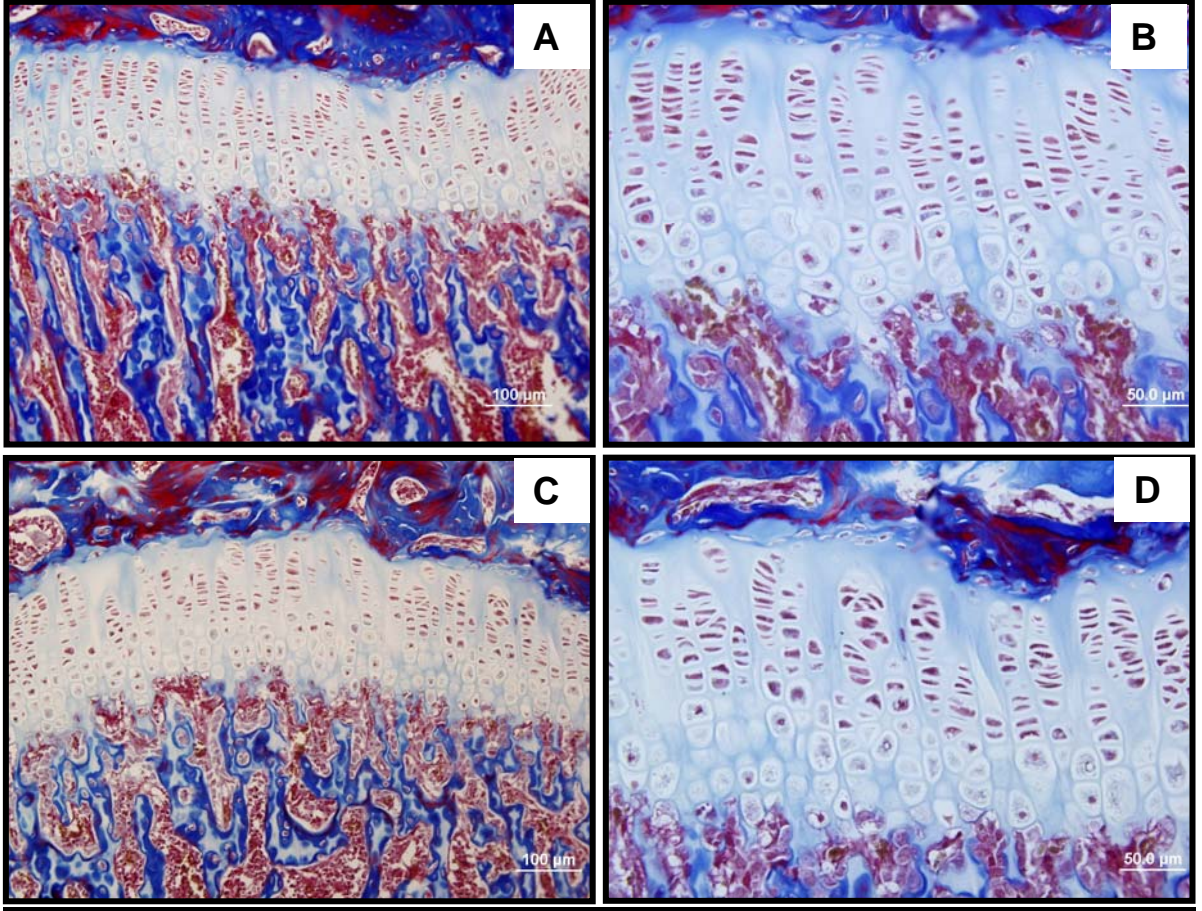
<b>Tablo 8: Kemik histomorfometrisi bulgularının karşılaştırılması</b>			
	<b>Çalışma Grubu</b>	<b>Kontrol Grubu</b>	<b>p</b>
<b>Büyüme plağı kalınlığı (µm)</b>	209,61±3,63	200,64±6,58	<b>&lt;0,001</b>
<b>Kortikal kemik kalınlığı (µm)</b>	105,05±10,69	81,87±11,04	<b>&lt;0,001</b>
<b>TV/BV (%)</b>	19,75±2,68	23,36±5,79	<b>0,007</b>
<b>OV/BV (%)</b>	0,66±0,41	1,18±0,90	0,056
<b>Osteoblast sayısı (/mm)</b>	4,16±0,34	5,47±0,19	<b>&lt;0,001</b>
<b>Osteoklast sayısı (/mm)</b>	0,35±0,12	0,60±0,13	<b>&lt;0,001</b>



**Şekil 16:** Çalışma grubundan kemik histolojisinin değerlendirildiği kesitlerden örnekler.  
Boyama: H-E



**Şekil 17:** Kontrol grubundan kemik histolojisinin değerlendirildiği kesitlerden örnekler.  
Boyama: H-E



**Şekil 18:** Büyüme kıkırdağı yüksekliği ölçümlerinin yapıldığı kesitler. Kontrol grubu (A,B), Çalışma grubu (C,D), Boyama: M-T

## **5.0 TARTIŞMA**

Cinacalcet çeşitli dokularda bulunan kalsiyum duyarlı reseptörlerin yapısal konformasyonunu değiştirerek hücre dışı kalsiyuma karşı duyarlılığın artmasına neden olan pozitif alosterik düzenleyici bir bileşiktir. Kalsiyum duyarlı reseptörün aktivasyonu fosfolipaz C'yi stimüle eder, bu da hücre membranına bağlı fosfolipit inositol 4,5-bifosfatın iki adet ikincil haberciye hidrolizini katalize eder. Bu ikincil haberciler inositol 1,3,5-trifosfat ve diaçilgliserol'dür. İnositol 1,3,5-trifosfat birikimi, hücre içi depolardan kalsiyum salınımı ile sitozolik kalsiyum konsantrasyonunda artışa neden olur. Kalsiyum duyarlı reseptörün aktivasyonu ayrıca hormon stimülasyonuna neden olan hücre içi cAMP birikimini inhibe eder. Sonuç olarak PTH sekresyonu baskılanarak serum PTH düzeyinin düşmesine neden olur.<sup>103 119</sup> Sıçanlarda cinacalcet'in 1–36 mg/kg doz aralığında doğrusal farmakokinetik özellik gösterdiği, doz bağımlı olarak PTH düzeyini baskıladığı ve oral kullanılabilir olduğu saptanmıştır.<sup>118 120</sup> Cinacalcet'in serum PTH ve kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu üzerine olan azaltıcı etkisi tüm dozlarda doz sonrası bir saat içinde başlamakta ve doz sonrası sekizinci saatte istatistiksel olarak anlamlı düşüş yalnızca 10 ve 30 mg/kg dozlarında gözlenmiştir. Doz sonrası 24. saatte 30 mg/kg cinacalcet dozunda kan iyonize kalsiyum düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı düşüklüğün devam ettiği fakat 10 mg/kg dozunda bu etkinin gözlenmediği saptanmıştır.<sup>118</sup> Yaptığımız in vivo çalışmada enteral olarak 25 mg/kg cinacalcet'in 3 hafta süre ile uygulandı. Son doz sonrası 6–8. saatlerde sıçanların serum PTH, total kalsiyum, iyonize kalsiyum düzeyinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak daha düşük olduğu saptandı ( $p < 0,05$ ).

Paratiroid hormon hücre dışı kalsiyum konsantrasyonunun ana düzenleyici hormonudur. Serum kalsiyum konsantrasyonunu artırma yönündeki etkilerini kemik ve böbrekleri direk olarak barsaklar üzerine olan etkilerini de D vitamini üzerinden gösterir. Kalsiyum duyarlı reseptörleri aktive eden bileşiklerin (kalsimimetikler) sağlıklı sıçanlarda serum PTH ve kan iyonize kalsiyum konsantrasyonu azalttığı çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir.<sup>121 122 118</sup> Cinacalcet uygulanan sıçanların kontrol grubu ile karşılaştırıldığında vitamin D düzeyleri arasında fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ). Çalışmamızda vitamin D düzeylerinde anlamlı değişiklik olmaksızın serum PTH ve kalsiyum düzeylerindeki istatistiksel olarak önemli azalmanın cinacalcet'in terapötik etkisi ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

Böbrekten kalsiyum geri emiliminin %65-70'i proksimal tübülde, %20-25'si de Henle kulpunun çıkan kalın kolunda (HKÇK) ve geriye kalan yaklaşık %10'u distal toplayıcı tübül ve kortikal toplayıcı kanallarda gerçekleşmektedir. Proksimal tübülde kalsiyum geri emilimi baskın olarak su ve tuz geri emilimi ile beraber dolaylı olarak meydana gelir. Henle kulpunun çıkan kalın kolunda kalsiyum geri emilimi  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$  kotransportörü (NKCC2), renal dış medüller potasyum kanalı (ROMK) ve klor kanalı aracılığı ile gerçekleştirilen pozitif lümen potansiyeli sayesinde parasellüler transport ile meydana gelmektedir. Distal tübüldeki hücrelerin apikal yüzlerinde bulunan epitelyal kalsiyum kanalları lümeden kalsiyumun hücre içine taşınmasını sağlar. Hücre içine alınan kalsiyum Calbindin-D28K aracılığı ile bazolateral membrana taşınır. Bazolateral kenarda bulunan "sodium calcium exchanger 1"(NCX1) ve "plazma membran kalsiyum ATPaz" (PMCA) kalsiyumun bazolateral membrandan sitozol dışına çıkmasını sağlarlar. Bu basamaklar PTH tarafından düzenlenmektedir.<sup>15</sup> Kalsiyum duyarlı reseptör aralarında jukstaglomeruler cisimcik, proksimal tübülün apikal membranı, Henle kulpunun medüller kalın çıkan kolu bazolateral membranı, Henle kulpunun kortikal kalın çıkan kolu, distal toplayıcı kanallar bazolateral ve iç medüller toplayıcı kanalın apikal yüzeyinin bulunduğu böbreğin birçok yerinde bulunmaktadır.<sup>22 123</sup> Bazolateral membran boyunca en fazla kortikal kalın çıkan kolda eksprese olurken apikal membranda proksimal tübül fırçamsı kenarda S1'den S3 segmentine doğru azalarak eksprese olmaktadır. Distal toplayıcı kanal apikal membranda da ekspresyonu gösterilmiştir.<sup>22</sup> Kalsimimetik uygulanması sistemik PTH düzeyini azaltarak epitelyal kalsiyum kanallarında ve kalsiyum transport proteinlerinde azalma in vivo olarak gösterilmiştir.<sup>124</sup> Yapılmış olan deneysel bir çalışmada kalsimimetik olarak NPS R-568'in hipokalsemik yanıtının iki taraflı nefrektomi yapılmış sıçanlarda değişmediği bununla birlikte tiroid dokusu korunarak yapılan paratirioidktomi sonrası hipokalsemik yanıtın bozulduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar ile kalsiyum duyarlı reseptörlerin aktivasyonu ile elde edilen hipokalsemik yanıtta böbreklerin rolü olmadığı öne sürülmüştür. Buna karşıt olarak, kalsimimetiklerin kalsiyum geri emilimini tübüler kalsiyum duyarlı reseptörler üzerinden azalttığı çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir.  $\text{PTH}^{-/-}\text{CaR}^{+/+}$  ve  $\text{PTH}^{-/-}\text{CaR}^{-/-}$  fareler ile yapılmış bir çalışmada; PTH yokluğunda serum kalsiyum düzeyleri ve idrar kalsiyum atılımı  $\text{CaR}^{+/+}$  farelerde  $\text{CaR}^{-/-}$  fareler ile karşılaştırıldığında daha az varyasyon gösterdiği saptanmıştır.<sup>125</sup> Kalsiyum duyarlı reseptör aktivasyonu, HKÇK ve distal toplayıcı tübülde cAMP-ilişkili kalsiyum ve magnezyum transportunu PTH tarafından stimüle edilen adenilat siklazı inhibe ederek azaltır.<sup>23 24</sup> Ayrıca

HKÇK'da apikal CaR aktivasyonu apikal K<sup>+</sup> kanalını ve olasılıkla doğrudan Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>2Cl<sup>-</sup> kotransportu inhibe eder. Bu etki sonucunda parasellüler kalsiyum ve magnezyum transportu azalır. Bu durum CaR'ün serum kalsiyum konsantrasyonunun düzenlenmesinde renal tübüllerde PTH üzerinden olan etkisinin yanı sıra direk etkisinin olduğunu göstermektedir.<sup>126</sup> İnaktivasyon mutasyonuna bağlı ailevi hipokalsiürik hiperkalsemili kişilerde PTH'dan bağımsız olarak tübüler kalsiyum reabsorpsiyonu artmıştır.<sup>127</sup> Kalsiyum duyarlı reseptör gen mutasyonu olan kişilerde CaR'ün kalsiyum transportunun düzenlenmesindeki direk rolü olduğunu göstermektedir. Uygulanan Cinacalcet ile aktivasyon mutasyonuna benzer klinik tablo oluşturulmuştur. Cinacalcet kalsiyum atılımındaki artışa muhtemelen iki farklı mekanizma ile neden olmaktadır. İlki PTH düzeyini düşürerek distal tübülde kalsiyum geri emilimini azaltarak ve ikincisi tübüler kalsiyum duyarlı reseptör duyarlılığını artırarak etkisini göstermektedir. Cinacalcet'in kalsiyum atılımı üzerine etkisi böbrek transplantasyonu sonrası hiperparatiroidisi olan hastalarda araştırılmıştır. On bir hastada yapılmış bir çalışmada 10 haftalık cinacalcet uygulanmasının kalsiyum atılımı üzerine etkisinin olmadığı gözlenmiştir.<sup>128</sup> Dokuz hastada yapılmış bir çalışmada cinacalcet uygulanmasından sonra 4. saat, 1., 2. ve 3. günlerde kalsiyum atılımında değişiklik gözlenmemiştir. Fakat fraksiyonel kalsiyum atılımı 4. saatte bazal değer olan %1,66 dan %2,5'e artmış, sonrasında 1. ayda %1,65'e 3. ayda %1,29'a düşmüştür.<sup>129</sup> On hasta ile yapılmış diğer bir çalışmada cinacalcet uygulanmasından sonraki ilk sekiz saatte fraksiyonel kalsiyum atılımında istatistiksel artış gözlenmiştir. Yakın zamanda 32 hastada yapılmış olan bir çalışmada cinacalcet uygulanmasından sonraki ilk 14 günde artmış kalsiyum atılımının 14-42. günlerde azalmasına rağmen devam ettiği saptanmıştır.<sup>130</sup> Çalışmamızda üç haftalık cinacalcet uygulaması sonrası sıçanlarda günlük kalsiyum atılımı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ortalama %50'lik artış olduğu gözlemlendi. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte idrar kalsiyum atılımının serum kalsiyumuna oranı değerlendirildiğinde çalışma grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu saptandı. Çalışmamızda cinacalcet uygulamasından sonra erken dönemde idrar kalsiyum atılımı değerlendirilmediğinden cinacalcet ilişkili hiperkalsiüri varlığı saptanamamış olabilir. Bununla birlikte cinacalcet uygulanmasından sonra erken dönemde gelişmiş olan kalsiyum atılımında artışı çalışmanın sonunda saptayamamamızın nedeni gelişen kararlı düşük serum kalsiyum düzeyi sonucu tübüler kalsiyum yükünün azalması ile açıklanabilir. Sıçanlarda idrar kalsiyum atılımı geniş bir dağılım aralığı gösterir ve sıçanlar için tanımlanmış bir hiperkalsiüri sınırı bulunmamaktadır.<sup>131</sup> Bu nedenle gruplarda

hiperkalsiüri gelişen sıçan sayılarının sayısını saptamak ve bunları karşılaştırmak mümkün olmamıştır.

Böbrekler serum fosfor düzeyinin ayarlanmasında başlıca rol alan organlardır. Normal şartlarda serum fosfor düzeyindeki ani artış kan iyonize kalsiyum düzeyinde geçici bir azalmaya ve PTH sekresyonunda artışa neden olur. Bu durum proksimal tübülde fosfat geri emilimini azaltır ve serum fosfor konsantrasyonunun yeniden ayarlanmasını sağlar. Bundan dolayı böbrek fonksiyonları bozulmamış sıçanlara cinacalcet verildiğinde serum fosfor konsantrasyonunda bir artış olması beklenir. Cinacalcet aracılığı ile serum PTH düzeyinde meydana gelen düşüş fosfor geri emiliminde artışa neden olması beklenen bir bulgudur. Kalsimimetik olan NPS R-568 ve cinacalcet verilen hayvanların daha yüksek serum fosfor düzeylerine sahip olduğu bildirilmiştir.<sup>118 121</sup> Sekonder hiperparatiroidili son dönem böbrek hastalığı olan hastalarda cinacalcet'in hiperfosfatemiyi kötüleştirmede onun yerine serum fosfor düzeylerini düşürme yönünde etkisi olduğu gösterilmiştir.<sup>132 133</sup> Bu durum hastalarda tübüler böbrek fonksiyonlarının tamamen kaybedilmiş olmasına bağlı olduğu öne sürülmüştür. Yaptığımız bu çalışmada serum fosfor konsantrasyonu cinacalcet verilen sıçanlarda %11,6 daha fazla saptanmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p > 0,05$ ). Gruplar arasında Tmp/GFR değerleri çalışma grubunda daha yüksek olmakla beraber istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ). Ba ve Friedman tarafından yapılmış in vitro çalışmada PTH'nın proksimal tübülde fosfor transportunu azaltma yönünde olan etkisinin CaR aktivasyonu ile baskılandığı gösterilmiştir.<sup>134</sup> Aynı çalışmada CaR aktivasyonunun PTH yokluğunda bazal fosfor transportunu inhibe etmediği gösterilmiştir. Çalışma grubunda serum fosfor düzeyi ve Tmp/GFR'de kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark saptanmasa da artış olması hem serum PTH düzeyinde azalma ile hem de direk tübüler CaR aktivasyonu ile ilişkili olabilir.

D vitamini'nin CaR ekspresyonunda artışa neden olduğu gösterilmiştir.<sup>135</sup> Bu etki kalsiyum duyarlı reseptör geninin promotor bölgesinde saptanmış olan "Vitamin D response elements" aracılığı ile gelişmekte olduğu öne sürülmektedir.<sup>136</sup> Yaptığımız çalışmada cinacalcet uygulanan sıçanların kontrol grubu ile karşılaştırıldığında vitamin D düzeyleri arasında fark gözlenmedi ( $p > 0,05$ ). Bu bulgu çalışmanın vitamin D düzeylerinden etkilenmediğini düşündürmektedir.

De Jesus Ferreira ve arkadaşları yaptıkları çalışmada hücre dışı kalsiyumun kortikal çıkan kolda bazal ve PTH ilişkili Cl geri emilimini cAMP yolağını baskılayarak azalttığı

gösterilmiştir. Bununla birlikte Motoyoma ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada CaR ‘ün hem aktif transellüler hem de pasif parasetüler kalsiyum geri emilimini düzenlediğini fakat kortikal çıkan kolda Na geri emilimi üzerine etkisi olmadığını öne sürmüşlerdir.<sup>137</sup> Sonuç olarak CaR aktivasyonunun tüm çalışmalarda olmasa da Henle kulpunun medüller ve kortikal çıkan kolunda tuz emilimini inhibe ettiği gösterilmiştir.<sup>26</sup> Yaptığımız bu çalışmada da fraksiyonel sodyum ve fraksiyonel klor atılımının cinacalcet uygulanan grupta anlamlı olarak artmış olduğu saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). Kortikal çıkan kolda CaR’ın bu etkisi pasif parasetüler kalsiyum ve magnezyum geri emilimini azaltır.<sup>23 26</sup> Ayrıca yapılmış olan in vitro bir çalışma ile CaR aktivasyonunun magnezyum transportunu bir “tight junction” proteini olan claudin-16 üzerinden azalttığı da öne sürülmüştür.<sup>138</sup> Çalışmamızda literatur ile uyumlu olarak fraksiyonel sodyum ve fraksiyonel klor atılımında anlamlı artış (Sırası ile  $p < 0,05$  ve  $p = 0,05$ ) olmakla birlikte sadece serum klor düzeyinde anlamlı bir düşüş saptanırken serum sodyum düzeyleri normal düzeyde kalmıştır. Ayrıca istatistiksel olarak anlamlı olmayan serum magnezyum düzeyinde düşme ve idrar magnezyum atılımında artış saptanmıştır ( $p > 0,05$ ).

İç medüller toplayıcı kanalda idrar yoğunluğu iki mekanizmaya bağlı olarak düzenlenmektedir; (1) vasopressin aracılığı ile aktif su reabsorpsiyonu, (2) yüksek medüller intertisyum osmolaritesi aracılığı ile suyun pasif reabsorpsiyonu. Vasopressin iç medüller toplayıcı kanaldaki bu etkisini cAMP aracılığı ile akuaporin-2 kanalları üzerinden sağlamaktadır. İç medüller toplayıcı kanal bazolateral membrandaki CaR’ün cinacalcet aracılığı ile uyarılması sonucu vasopressin tarafından cAMP oluşumu baskılanır ve vasopressin etkisi azalır. Bu durum idrar konsantre edebilme yeteneğini kısıtlayarak daha az yoğun idrar ve poliüriye neden olur. Ayrıca kalsiyum duyarlı reseptörün Henle kulpunun medüller çıkan kalın kolunda NaCl geri emilimini azaltarak böbreğin idrar konsantre edebilme yeteneğini baskılamaktadır.<sup>139</sup> Ayrıca artmış tübüler sıvıdaki kalsiyum ile aktifleşen luminal CaR özgün olarak akuaporin kanalları aracılığı ile vasopressin tarafından uyarılan ozmotik H<sub>2</sub>O permeabilitesini inhibe ederek idrar konsantre edebilme yeteneğini kısıtlanmasına katkıda bulunduğu öne sürülmüştür.<sup>25 26</sup> Polivalan katyonlar, neomisin ve gentamisin tarafından CaR’ın aktivasyonu bu ajanların böbrekteki non oligürik böbrek yetmezliği gibi bazı etkilerinin nedeni olabileceği ileri sürülmüştür. Cinacalcet uyguladığımız sıçanların kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 24 saatlik idrar hacimlerinde artış olduğu saptandı ( $p > 0,05$ ). Gruplar arasında kan üre azotu, kreatinin düzeyleri ve ağırlıklar arasında fark olmaması nedeni ile böbrek fonksiyonlarında bir yetersizlik olmadığı gözlemlendi.



Yaptığımız bu çalışmada deney hayvanlarının idrar kalsiyum atılımı ile diürez/idrar hacmi arasında pozitif korelasyon olduğu saptandı. Çalışma grubunda cinacalcet ile CaR aktivasyonunun vasopressin etkisini direk baskılaması, artmış tübüler kalsiyum ile aktifleşen luminal CaR aktivasyonu ile vasopressin etkisinin dolaylı olarak baskılanması ve CaR aktivasyonunun HÇKK'da NaCl geri emiliminin baskılanması sonucu idrar miktarında artışa yol açtığı düşünülmektedir.

Cinacalcet ile yapılmış klinik çalışmalarda en sık rastlanan istenmeyen etki %31'e varan sıklıkta mide bulantısı olarak saptanmıştır.<sup>140</sup> Üremik sıçanlarda yapılmış olan bir çalışmada sıçanların günlük yiyecek alımları, uzunlamasına büyümeleri ve ağırlık artışları değerlendirilmiş; cinacalcet ile tedavi edilen üremik sıçanların plasebo uygulanan üremik sıçanlar ile karşılaştırıldığında total ağırlık artışları ve 100 gr vücut ağırlığı başına ağırlık artışlarının daha fazla olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada cinacalcet'in bu etkisinin CaR aracılığı ile kas gibi periferik organlarda "caspase-3/ubiquitin protease" sistemi veya kas kitlesi düzenleyicisi "IGF-1/myostatin" gibi protein yıkım süreçlerini inhibe etmesi ile açıklanabileceği öne sürülmüştür. Diğer bir olasılık olarak da merkezi CaR aktivasyonunun leptin ve nöropeptit Y tarafından melanokortin tip 4 reseptörler aracılığı ile olan sinyal akışının azalması sonucu üremi ilişkili katabolizmadan korunmaya neden olabileceği belirtilmiştir. Bu nedenle cinacalcet ilişkili olarak sıçanların besin alımlarının azalarak kilo alımlarının azalabileceği ve dolaylı olarak yetersiz beslenmenin kemik metabolizmasına etkileri olabileceği ön görülerek yaptığımız bu çalışmada cinacalcet uygulanan sıçanlar ile kontrol grubundaki sıçanların ağırlık artışları değerlendirildi. Sıçanların çalışma başlangıcındaki ağırlıkları, çalışma sonunda ağırlıkları ve 100 gr vücut ağırlığı başına aldıkları ağırlıkları arasında gruplar arasında fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ).

Mezangial hücreler yüzey alanını ve/veya glomerüler kan akımını değiştirerek glomerüler filtrasyon oranının düzenlenmesinde rol oynarlar. Bundan dolayı mezangial hücre çoğalmasının glomerüler hasarda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Mezangial hücrelerin aşırı çoğalması son dönem böbrek yetmezliğine neden olabilen birçok hastalığın yaygın bulgusudur. Metabolik (örn: Diyabetik nefropati) veya immünolojik (örn: Ig A nefriti ve lupus nefriti) gibi çeşitli nedenler ile başlayan hasarlanma kontrolsüz mezangial hücre çoğalmasına neden olabilmektedir. Bu durum hücre dışı matriks birikiminde artış ve sonunda glomeruloskleroza neden olmaktadır. Bunun sonucunda nefronların fonksiyon kaybına bağlı olarak glomerül filtrasyon oranı düşmektedir. Literatürde hiperkalsiürinin öncülük ettiği

mezangial hücre çoğalması ile seyreden IgA nefropatisi bildirilmiştir.<sup>141</sup> Bu hasarlanmaya patolojik yanıt olarak gelişen mezangial hücre çoğalmasının düzenleyici mekanizmalarının sağlıklı böbrekte tanımlanması yeni tedavi yaklaşımların saptanması açısından önemlidir. Yakın zamanda kalsiyum ilişkili mekanizmaların düşük voltajlı T tip kalsiyum kanalları aracılığı ile hücre çoğalma döngüsünde rol oynadığı öne sürülmüştür.<sup>142</sup> Farmakolojik olarak T-tip kalsiyum kanallarının inhibe edilmesi veya T-tip kalsiyum kanal geni devre dışı bırakılarak yapılmış olan çalışmalarda mezangial hücrelerin G1 fazında biriktikleri ve S fazındaki hücre sayısında azalma olduğu gösterilmiştir. Bu bulgu T-tip kalsiyum kanallarının G1/S ilerlemesinin kontrolünde rol oynadığını düşündürmektedir. Prolinden zengin tirozin kinaz aracılığı ile aktiflenen Ras/MAPK kaskadı veya kalmodulin ilişkili kinazlar ve kalsinörinlerin T-tip kalsiyum kanalların hücre çoğalma döngüsüne olan etkilerinde rol alan iki sinyal yolağı olduğu öne sürülmüştür.<sup>143</sup> Kalmodülin kalsiyum bağlayan bir protein olup hücre çoğalma döngüsündeki G1/S geçişinde ekspresyonu artmaktadır. Kalmodülinin aşırı ekspresyonu G1 fazını kısaltarak hücre çoğalmasını hızlandırmaktadır. Kalsiyum/Kalmodülin kompleksi ile aktifleşen kalmodülin ilişkili kinazlar ve kalsinörin aracılığı ile otoinhibisyon zayıflamaktadır. Bu proteinler hücre çoğalma döngüsünde önemli olan transkripsiyon faktörlerden “Ca<sup>+2</sup> /cAMP response element binding protein”in aktifleşmesinde rol oynarlar.<sup>144</sup> Kalsiyum duyarlı reseptörlerin uyarılması sonucu aralarında “mitogen-activated protein kinase” ‘ın bulunduğu çeşitli büyüme sinyal yollarının aktifleşmesine katkıda bulunduğu öne sürülmüştür.<sup>145</sup> <sup>146</sup> Kalsiyum duyarlı reseptörlerin aralarında osteoblastlar, fibroblastlar ve over yüzey epitel hücrelerinin bulunduğu çeşitli hücre tipleri üzerine mitojenik etkileri olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır.<sup>145</sup> <sup>147</sup> <sup>148</sup> Glomerülde kalsiyum duyarlı reseptör’ün eksprese olduğu daha önce yapılmış çalışmalar ile gösterilmiştir.<sup>149</sup> <sup>150</sup> Kwak ve arkadaşları yaptıkları in vitro çalışma ile CaR’ın fare mezangial hücrelerinde eksprese olduğunu ve hücre dışı kalsiyum konsantrasyonu artırıldığında CaR aracılığı ile hücre çoğalması olduğunu saptamışlardır. Kalsiyum duyarlı reseptör ilişkili sinyallerin birçok protein kinaz ile ilişkili olduğunu bildiren araştırmalar da bulunmaktadır.<sup>151</sup> <sup>152</sup> Yaptığımız bu çalışmada CaR’lerin bir kalsimimetik olan cinacalcet tarafından uyarılması sonucu sıçanlarda hem glomerüler hem de ekstraglomerüler mezangial hücre çoğalmasına neden olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma ile in vitro olarak CaR aracılığı ile kalsiyumun neden olduğu mezangial proliferasyon artışının cinacalcet ile CaR’ün aktive edildiği düşük kalsiyum düzeylerinde de olabileceği ilk kez in vivo olarak gösterilmiştir. Bu sonuç kalsiyumdan ziyade

CaR'nün mezangial proliferasyonda etkili olabileceğini düşündürmektedir. Kalsiyum duyarlı reseptör ilişkili mezangial hücre çoğalması konusunda yapılacak çalışmalar böbrek hastalıklarının fizyopatolojisinin anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.

Kalsiyum duyarlı reseptörlerin insan periferik kan monositlerinde ve fare monosit-makrofaj hücre serisinde eksprese olduğu gösterilmiştir.<sup>153 154</sup> Yapılmış olan bir çalışmada hücre dışı kalsiyum veya özgün allosterik CaR aktivatörü olarak NPS R-467 ile doz ilişkili olarak monosit kemotaksisinde artış gözlenmiştir. Böylece hücre dışı kalsiyumun monositik hücrelerde direk ve indirek etkiler ile bir iyonik kemokinetik etmen fonksiyonu göstererek immun yanıtı etkileyebildiği gösterilmiştir.<sup>155</sup> Yaptığımız bu çalışmada cinacalcet uygulanan sıçanların böbrek dokusunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında çalışma grubunun yarısından fazlasında belirgin mononükleer hücre infiltrasyonu saptandı (Şekil 13). Bu etkinin cinacalcet ilişkili artmış olan CaR duyarlılığına bağlı olarak meydana gelebileceği ve istatistiksel olarak anlamlı olmamasının nedeninin denek sayısının azlığı olabileceği düşünüldü.

Hiperkalsemi, kalsiyum hemostazisinde fizyolojik negatif geri bildirim sistemi ile kemik rezorpsiyonunu baskılamakta ve kemik oluşumunu uyarmaktadır.<sup>156</sup> Kemik dokusunda CaR ekspresyonu kalsiyuma duyarlılık mekanizmasını açıklayabilir fakat bu konu oldukça tartışmalıdır. Osteoblast ve osteoklast ilişkili hücrelerde CaR ekspresyonunu bildirilmiştir.<sup>157</sup> Ayrıca osteoblast ve kondrositlerde hücre içi CaR varlığı bildirilmiştir.<sup>158</sup> Bununla birlikte Shalhoub ve arkadaşları yaptıkları çalışmada osteoblast ve osteoklastlarda CaR ekspresyonunu olmadığını gösterirken, Pi ve arkadaşları osteoblast ve osteoklastlarda CaR dışında yeni bir kalsiyum reseptörü olduğunu ileri sürmüşlerdir.<sup>9 159</sup> İdiyopatik hiperkalsiüri böbrek taş hastalığı olan çocuklarda saptanan en sık metabolik anormalliktir. Hiperkalsiüri olan çocukların ailelerinde böbrek taş hastalığı prevalansı %69 olarak saptanmıştır. İdiyopatik hiperkalsiüri patogenezinde aralarında CaR geninin polimorfiziminin de bulunduğu çeşitli genetik mutasyonların rol aldığı öne sürülmüştür.<sup>29 30</sup> Primer hiperparatiroidizmli hastalarda CaR geni R990G polimorfizminin artmış kalsiyum duyarlılığına işaret eden daha düşük serum PTH düzeyleri ve yüksek idrar kalsiyum atılımı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.<sup>160</sup> Ayrıca R990G polimorfizminin böbrek taş hastalığı ile anlamlı birlikteliği gözlenmiştir.<sup>161</sup> Benzer şekilde idiyopatik hiperkalsiüriye yatkınlık oluşturduğu ileri sürülmüştür. Kalsiyum duyarlı reseptör'ün kemik hücre regülasyonu üzerine etkileri net olarak bilinmemekle beraber CaR agonistlerinin osteoklastlar üzerine potansiyel inhibitör etkiye ve CaR antagonistlerinin

osteoblastlar üzerine potansiyel stimülatör etkileri olduğu düşünölmektedir. İn vitro olarak erişkin insan hücre kültüründe yapılan bir çalışmada kalsiyumun osteoblastik hücre sayısında artışa ve osteoklast formasyonu/fonksiyonlarında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte bir kalsimimetik ajan olan cinacalcet ile kalsiyumun bu etkisinin potansiyalize olmadığı gösterilerek bu etkide CaR dışında bir reseptör veya mekanizmanın rol aldığı ileri sürölmüştür.<sup>9</sup> Yapılmış çalışmalar ile hem çocuk hem de erişkin hiperkalsiürik hastalarda artmış kemik kaybı riski gösterilmiştir.<sup>51 52 53 56 57 58 59</sup> İdiyopatik hiperkalsiüride hem statik hem de dinamik kemik histomorfometirisinin değerlendirildiği çalışmalar çelişkili sonuçlar göstermiştir. Bununla birlikte birçok çalışmada kemik döngüsünün ağır minerilizasyon defektinin eşlik ettiği azalmış kemik oluşumu lehine olduğu ileri sürölmüştür. Kemik minerilizasyonu ve rezorpsiyonunun iki çalışmada normal, üç çalışmada artmış ve üç çalışmada azalmış olduğu bildirilmiştir.<sup>162</sup> İdiyopatik hiperkalsiüri alt gruplar şeklinde değerlendirildiğinde renal tip hiperkalsiüri hastalar absorbtif tip hiperkalsiüri hastalar ile karşılaştırıldığında BMD kayıplarının daha belirgin olduğu görölmektedir. Kemik kaybının gelişmesinde ikincil hiperparatiroidizmin rol oynadığı düşünölmüştür. Diğer taraftan absorbtif tip hiperkalsiüri hastalarda barsaktan artmış kalsiyum Emilimi olmasına rağmen kemik kaybının olması primer defektin kemik düzeyinde olduğunu düşöndürmektedir. Taş oluşumuna neden olan hiperkalsiüri modeli olarak genetik hiperkalsiürik sıçanlar ile yapılmış çalışmalar temel defektin kemik hemostazinde olduğunu desteklemektedir.<sup>163</sup> Kronik böbrek yetersizliği olan sıçanlarda bir kalsimimetik olan NPS R-568 ‘nin aralıklı uygulanması sonucu kısa süreli PTH baskılanması ile anlamlı bir şekilde trabeküler kemik kalınlığını normalleştirerek kemik hacminde artışa neden olduğu ve kemik mineral yoğunluğunda %14’lük bir artış sağlayarak kemikler düşük döngölü lezyonlar üzerine anabolik etkisi olduğu gösterilmiştir.<sup>92</sup> Yaptığımız bu çalışmada cinacalcet uygulanan sıçanlarda büyüme plağı kalınlığının ve kortikal kemik kalınlığının kontrol ile karşılaştırıldığında artmış olduğu gözlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında trabeküler kemik hacmi, osteoblast ve osteoklast sayısında anlamlı azalma saptandı. Osteoid hacimde azalma olmakla beraber bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,059). Cinacalcet uygulanan sıçanların kortikal kemik kalınlığında artış olması muhtemelen osteoklast sayısındaki azalmaya ikincil kemik rezorpsiyonunun baskılanması sonucu meydana gelmektedir. Cinacalcet kullanımı ile ilişkili olarak aşırı PTH baskılanmasına ikincil aralarında adinamik kemik hastalığı veya kemik dönüşümünde azalmaya bağlı diğer lezyonların gelişmesi olasıdır.<sup>103 116</sup> Rubin ve

arkakadaşları hipoparatiroidizmi olan 33 hastayı yaş ve cinsiyet uyumlu sağlıklı kontroller ile kemik histomorfometrisi açısından karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada trabeküler kemik hacmi, trabekül genişliği ve kortikal kemik genişliğinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artmış olduğu ve dinamik iskelet parametrelerinden minerilizasyon yüzeyi ve kemik oluşum oranının hipoparatiroid bireylerde baskılanmış olduğu saptanmıştır.<sup>164</sup> Paratiroid hormonu olmayan farelerde azalmış kemik döngüsü ile beraber artmış trabeküler kemik hacmi olduğu bildirilmiştir.<sup>165</sup> Bununla birlikte osteoblastlarda PTH-PTHrP reseptörünün uyarılması ile trabeküler ve kortikal kemikte zıt etkiler oluşmaktadır.<sup>166</sup> Osteoklast ve osteoblastların azalmış olması PTH düzeylerinin baskılanması sonucu adinamik kemik hastalığı ile uyumlu bulgular ile benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte çalışmamızdaki kemiğe ait histomorfometrik bulgularımızın doğrudan cinacalcet ile CaR'ünün uyarılması ile ilişkili yoksa cinacalcetin oluşturduğu düşük serum PTH ilişkili olduğu konusunda karar vermek mümkün olmamıştır. Büyüme plağı kalınlığının artmış olması, kortikal kemik kalınlığının artması, osteoblast ve osteoklast sayısının azalması ile birlikte PTH hormonu olmayan farelerde saptanmayan trabeküler kemik hacminde azalma cinacalcet uygulanan sıçanlarda primer spongios kemik oluşununun olumsuz yönde etkilendiğini düşündürmektedir.

Adinamik kemik hastalığı ve osteomalazi düşük kemik dönüşümü olan kemik hastalıklarını oluştururlar. Bunlardan adinamik kemik hastalığı azalmış osteoblast sayısı ve genellikle normal veya azalmış osteoklast sayısı ile karakterizedir. Minerilizasyon normal oranında devam etmekte ve normal veya azalmış osteoid hacimle sonlanmaktadır. Altta yatan patofizyolojik sürecin başlıca özelliği hipoparatiroidizm ve osteoblastların baskılanmasıdır.<sup>167</sup> Çalışmamızda statik kemik histomorfometrisi parametreleri değerlendirilmiştir. Dinamik parametrelerinin değerlendirilmesinde tetrasiklin kullanılmaktadır. Tetrasiklin'in intertisyel nefrit yapabildiği ve sıçanlarda hiperkreatininemiye neden olduğu bildirilmiştir.<sup>168 169</sup> Çalışmamızda kemik histomorfometrisi yanında böbrek fonksiyonları ve histolojisi de araştırıldığından tetrasiklin kullanımından kaçınıldığı için dinamik kemik histomorfometri parametreleri değerlendirilememiştir.

Uzunlamasına kemik büyümesi çeşitli hormon ve sitokinlerin etkisi altında kontrol edilen bir süreçtir. Fizyolojik kondrogenesis ve kemik büyümesi için hücre dışı kalsiyum çok önemli bir rol oynamaktadır. Artan hücre dışı kalsiyum konsantrasyonu kollajen X ekspresyonunu artırırken hücre dışı kalsiyumun etilen glikol tetraasetik asit ile ortadan kaldırılması ile matürasyon süreci engellenmektedir.<sup>89 90</sup> Sitolitik kalsiyum konsantrasyonu

hücre içi depolardan salınım ve hücre membranından geçiş ile düzenlenir. Kalsiyumun sitoplazma içine akışı voltaj bağımlı kanalların kontrolü altındadır. “Ex vivo” modelde R-568 kullanılarak CaR aktivasyonunun kondrogenesis üzerine olan etkileşimi araştırılmak amacı ile fetal sıçan metatars kemikleri kullanılarak yapılan bir çalışmada CaR aktivasyonunun uzunlamasına büyüme üzerine olumlu etkileri olduğu ileri sürülmüştür. Fetal sıçan metatars kültüründe verapamil ile doz bağımlı olarak bu kanalların blokajı uzunlamasına büyümeyi, kondrosit proliferasyonunu ve farklılaşmasını inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu in vitro çalışmalara karşın yakın zamanda yapılmış olan in vivo bir çalışmada üremik genç sıçanlarda 15 mg/kg dozunda cinacalcet’in 14 gün uygulanması sonrasında uzunlamasına büyüme, büyüme plakları üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Trabeküler kemik hacminde azalma ve büyüme plağı kalınlığında artış saptadığımız bu çalışma ile sağlıklı sıçanlarda cinacalcet uygulanmasının kemiğin uzunlamasına büyümesine olumsuz etkileri olabileceği öngörüsü ile bu konuda ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

## **6.0 SONUÇ VE ÖNERİLER**

1. Çalışmanın başlangıcında cinacalcet ile tedavi edilecek çalışma grubundaki sıçanların ağırlıkları ile kontrol grubundaki sıçanların ağırlıkları arasında fark saptanmadı (sırası ile 124,3±5,8 g ve 122,5±5,2 g,  $p > 0,05$ ). Çalışma bitiminde de gruplar arasında sıçanların ağırlıkları karşılaştırıldığında fark saptanmadı (sırası ile 144,2±16,3 g ve 138,8±8,4 g,  $p > 0,05$ ). Çalışma başlangıcı ve bitiminde sıçanların ağırlıkları ile 100 gr vücut ağırlığı başına ağırlık artışları arasında istatistiksel fark saptanmadı (sırası ile 14,3±13,0 g ve 13,5±6,4 g,  $p > 0,05$ ). Bu sonuçlar ile 25mg/kg/gün ağızdan gavaj ile sıçanlara cinacalcet uygulanmasının sıçanların kilo alımı üzerine etkisi olmadığı saptandı.
2. Çalışma bitiminde cinacalcet verilen sıçanlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum iyonize kalsiyum, total kalsiyum ve PTH düzeylerinin istatistiksel olarak daha düşük olduğu gözlemlendi. Cinacalcet'in 25mg/kg/gün ağızdan gavaj ile serum iyonize kalsiyum, total kalsiyum ve PTH düzeyleri üzerine etkin bir şekilde düşürdüğü saptandı.
3. Serum fosfor, sodyum, potasyum, kan üre azotu, kreatinin, magnezyum, total protein ve 25-OH vitamin D düzeyleri arasında fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ).
4. Cinacalcet verilen sıçanların 24 saatlik idrar hacimleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak daha fazla olduğu gözlemlendi ( $p < 0,05$ ) (Tablo 6).
5. Gruplar arasında Tmp/GFR değerleri çalışma grubunda daha yüksek olmakla beraber istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ) (Tablo 6).
6. Cinacalcet verilen sıçanların 24 saatlik idrar analizinde kalsiyum atılımında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ortalama kalsiyum atılımında %50'lik bir artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ) (Tablo 6).
7. İdrar ile atılan kalsiyumun serum kalsiyumuna oranı çalışma grubunda yüksek olarak bulundu ( $p < 0,05$ ) (Tablo 6).
8. İdrar kalsiyum atılımı ve idrar hacimleri arasında pozitif ilişki saptandı ( $r^2 = 0,399$ ,  $p < 0,05$ ) (Şekil 10).
9. Fraksiyonel sodyum ve fraksiyonel klor atılımının çalışma grubunda kontrol grubuna göre artmış olduğu saptandı (sırası ile  $p < 0,05$  ve  $p = 0,05$ ) (Tablo 6). Magnezyum atılımı ve proteinüri açısından fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ) (Tablo 6).
10. Çalışma grubunda ortalama glomerüler mezangial hücre sayısı kontrol grubundan yüksek olduğu saptandı (7,42/glomerül ve 4,87/ glomerül,  $p < 0,05$ ). Çalışma grubunda ortalama ekstraglomerüler mezangial hücre sayısı kontrol grubundan yüksek olduğu saptandı (4,28

/glomerül ve 2,15/ glomerül,  $p < 0,05$ ). Cinacalcet'in hem glomerüller hem de ekstraglomerüler mezangial hücre çoğalmasına neden olduğu in vivo olarak gösterildi.

11. Çalışma grubundaki 4 kontrol grubunda 1 sıçan'ın böbrek kesitlerinde mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değil idi ( $p=0.266$ ) (Şekil 15). Denek sayısının azlığı göz önüne alındığında bu etkinin cinacalcet ile artmış olan CaR duyarlılığına bağlı olarak meydana geldiğini söylenebilir.
12. Büyüme plağı kalınlığı ve kortikal kemik kalınlığı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında cinacalcet ile tedavi edilen sıçanlarda artmış olduğu saptandı ( $p < 0,05$ ). Trabeküler kemik hacminin, osteoblast sayısı ve osteoklast sayısının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında cinacalcet ile tedavi edilen sıçanlarda azalmış olduğu saptandı ( $p < 0,05$ ). Osteoid hacmin sayısal olarak çalışma grubunda daha düşük olduğu saptanmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak sınırda anlamlı bulundu. ( $p = 0,056$ ). Büyüme plağı kalınlığının artmış olması, kortikal kemik kalınlığının artması, osteoblast ve osteoklast sayısının azalma cinacalcet uygulanan sıçanlarda primer spongios kemik oluşunun olumsuz yönde etkilendiğini düşündürmektedir.
13. Trabeküler kemik hacminde azalma ve büyüme plağı çapında artış saptadığımız bu çalışma ile sağlıklı sıçanlarda cinacalcet uygulanmasının kemiğin uzunlamasına büyümesine olumsuz etkileri olabileceği öngörüsü ile bu konuda ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.
14. Çalışma grubumuzda sıçanlarda istatistiksel olarak anlamlı olmayan ancak kontrol grubuna göre günlük kalsiyum atılımındaki %50'den fazla artışla birlikte idrarla kalsiyum atılımının serum kalsiyumuna oranı çalışma grubu lehine anlamlı olarak artmış olması hiperkalsiüri modeli olarak kullanılabilirliğini düşündürse de sıçanlarda hiperkalsiürinin kantitatif sınırı saptanmamış olması nedeni ile çalışmamızdaki modelin hiperkalsiüri modeli olarak kullanılmasını engellemektedir.



## 7.0 KAYNAKLAR

---

- <sup>1</sup> Albright F, Henneman P, Benedict PH, Forbes AP. Idiopathic hypercalciuria: a preliminary report. *Proc R Soc Med* 1953;46:1077–81
- <sup>2</sup> Vezzoli G, Soldati L, Gambaro G. Hypercalciuria revisited: one or many conditions? *Pediatr Nephrol* 2008;23:503-6.
- <sup>3</sup> <http://www.emedicine.com>; eMedicine Specialties > Pediatrics: General Medicine > Nephrology >Hypercalciuria. Giriş tarihi 26.10 2008
- <sup>4</sup> Vezzoli G, Terranegra A, Arcidiacono T et al. R990G polymorphism of calcium-sensing receptor does produce a gain-of-function and predispose to primary hypercalciuria. *Kidney Int* 2007;71:1155–62
- <sup>5</sup> Kwak JO, Kwak J, Kim HW, Oh KJ, Kim YT, Jung SM, Cha SH. The extracellular calcium sensing receptor is expressed in mouse mesangial cells and modulates cell proliferation. *Exp Mol Med* 2005;37:457–65
- <sup>6</sup> Strippoli GF, Tong A, Palmer SC et al. Calcimimetics for secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; 18: CD006254
- <sup>7</sup> Cunningham J, Danese M, Olson K et al. Effects of the calcimimetic cinacalcet HCl on cardiovascular disease, fracture, and health-related quality of life in secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2005; 68: 1793–1800
- <sup>8</sup> Russell RG, Espina B, Hulley P. Bone biology and the pathogenesis of osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol* 2006;18:3–10.
- <sup>9</sup> Shalhoub V, Grisanti M, Padagas J et al. In vitro studies with the calcimimetic, cinacalcet HCl, on normal human adult osteoblastic and osteoclastic cells. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2003;13:89-106.
- <sup>10</sup> Portale AA. Calcium and phosphorus. In *Pediatric nephrology* / edited by Avner ED, Harmon WE Niaudet P. 5th Ed 2004. p210-49. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
- <sup>11</sup> Ali FN, Langman CB. Disorders of mineral metabolism. In *Kehr textbook of nephrology*/ edited by Kehr KK, Schnaper HW, Makker HW. 2nd Ed.2007; p37-57. Informa, UK
- <sup>12</sup> Nelson Textbook of Pediatrics. 18th edition. p210
- <sup>13</sup> Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry. 3rd ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins/Wolters Kluwer, 2005.
- <sup>14</sup> Paratiroid Hormon, Calcitonin, Calcium and Phosphate Metabolism, Vitamin D, Bone, and Teeth. In *Textbook of Medical Physiology*/ edited by Guyton AC, Hall JE. 11th ed. 2006; p978-94 Elsevier Philadelphia
- <sup>15</sup> Srivastava T, Alon US. Pathophysiology of hypercalciuria in children. *Pediatr Nephrol* 2007;22:1659-73
- <sup>16</sup> Hoenderop JG, van Leeuwen JP, van der Eerden BC et al. Renal Ca<sup>2+</sup> wasting, hyperabsorption, and reduced bone thickness in mice lacking TRPV5. *J Clin Invest* 2003;112:1906–14
- <sup>17</sup> Kung AWC. Genotype and phenotype correlation of calcium-sensing receptor variants. *Kidney Int* 2007;71:1085-6
- <sup>18</sup> Brown EM, Gamba G, Riccardi D et al. Cloning and characterization of an extracellular Ca<sup>+2</sup>-sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature* 1993;336:575-80
- <sup>19</sup> Frazao JM et al. The calcimimetic agents: Perspective for treatment. *Kidney int* 2002;61(supp80):149–54

- 
- <sup>20</sup> Steddon SJ, Cunningham J. Calcimimetics and calcilytics-folling the calcsium receptor. *Lancet* 2005;365:2237–9
- <sup>21</sup> Hebert SC. Extracellular calcium-sensing receptor: implications for calcium and magnesium handling in the kidney. *Kidney Int* 1996 Dec;50:2129–39
- <sup>22</sup> Riccardi D, Hall AE, Chattopadhyay N, Xu JZ, Brown EM, Hebert SC. Localization of the extracellular Ca<sup>2+</sup>/polyvalent cation-sensing protein in rat kidney. *Am J Physiol* 1998;274:F611-22.
- <sup>23</sup> De Jesus Ferreira MC, Bailly C. Extracellular Ca<sup>2+</sup> decreases chloride reabsorption in rat CTAL by inhibiting cAMP pathway. *Am J Physiol* 1998;275:F198-203.
- <sup>24</sup> Friedman PA, Gesek FA. Cellular calcium transport in renal epithelia: measurement, mechanisms, and regulation. *Physiol Rev* 1995;75:429-71.
- <sup>25</sup> Sands JM, Naruse M, Baum M, Jo I, Hebert SC, Brown EM, Harris HW. Apical extracellular alcium/polyvalent cation-sensing receptor regulates vasopressin-elicited water permeability in rat kidney inner medullary collecting duct. *J Clin Invest* 1997;99:1399-405.
- <sup>26</sup> Brown EM. Clinical lessons from the calcium-sensing receptor. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2007;3:122–33
- <sup>27</sup> Curhan GC, Willett WC, Rimm EB, Stampfer MJ. Family history and risk of kidney stones. *J Am Soc Nephrol* 1997;8:1568–73
- <sup>28</sup> Polito C, La Manna A, Cioce F, Villani J, Nappi B, Di Toro R. Clinical presentation and natural course of idiopathic hypercalciuria in children. *Pediatr Nephrol* 2000;15:211–4
- <sup>29</sup> Reed BY, Heller HJ, Gitomer WL, Pak CY. Mapping a gene defect in absorptive hypercalciuria to chromosome 1q233- q24. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3907–13
- <sup>30</sup> 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;13:2517–23
- <sup>31</sup> Imamura K, Tonoki H, Wakui K, Fukushima Y et al. 4q33-qter deletion and absorptive hypercalciuria: report of two unrelated girls. *Am J Med Genet* 1998;78:52–4
- <sup>32</sup> Moe OW, Bonny O. Genetic hypercalciuria. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:729–45
- <sup>33</sup> Maierhofer WJ, Lemann J Jr, Gray RW, Cheung HS. Dietary calcium and serum 1,25-(OH)<sub>2</sub>-vitamin D concentrations as determinants of calcium balance in healthy men. *Kidney Int* 1984;26:752–9
- <sup>34</sup> Maierhofer WJ, Gray RW, Cheung HS, Lemann J Jr. Bone resorption stimulated by elevated serum 1,25-(OH)<sub>2</sub>-vitamin D concentrations in healthy men. *Kidney Int* 1983; 24:555–60
- <sup>35</sup> Kaplan RA, Haussler MR, Deftos LJ, Bone H, Pak CY. The role of 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D in the mediation of intestinal hyperabsorption of calcium in primary hyperparathyroidism and absorptive hypercalciuria. *J Clin Invest* 1977;59:756–60
- <sup>36</sup> Zerwekh JE, Pak CY. Selective effects of thiazide therapy on serum 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D and intestinal calcium absorption in renal and absorptive hypercalciurias. *Metabolism* 1980;29:13–7
- <sup>37</sup> Beck L, Karaplis AC, Amizuka N, Hewson AS, Ozawa H, Tenenhouse HS. Targeted inactivation of Npt2 in mice leads to severe renal phosphate wasting, hypercalciuria, and skeletal abnormalities. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95:5372–7

- 
- <sup>38</sup> Tenenhouse HS, Gauthier C, Chau H, St-Arnaud R. 1 alpha-Hydroxylase gene ablation and Pi supplementation inhibit renal calcification in mice homozygous for the disrupted Npt2a gene. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004;286:F675–81
- <sup>39</sup> Shimada T, Mizutani S, Muto T et al. Cloning and characterization of FGF23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia. *Proc Natl Acad Sci* 2001;98:6500–5
- <sup>40</sup> Rowe PS, Oudet CL, Francis F et al. Distribution of mutations in the PEX gene in families with X-linked hypophosphataemic rickets (HYP). *Hum Mol Genet* 1997;6:539–49
- <sup>41</sup> Yao J, Kathpalia P, Bushinsky DA, Favus MJ. Hyperresponsiveness of vitamin D receptor gene expression to 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> A new characteristic of genetic hypercalciuric stone-forming rats. *J Clin Invest* 1998;101:2223–32
- <sup>42</sup> Li XQ, Tembe V, Horwitz GM, Bushinsky DA, Favus MJ. Increased intestinal vitamin D receptor in genetic hypercalciuric rats. A cause of intestinal calcium hyperabsorption. *J Clin Invest* 1993;91:661–7
- <sup>43</sup> Favus MJ, Karnauskas AJ, Parks JH, Coe FL. Peripheral blood monocyte vitamin D receptor levels are elevated in patients with idiopathic hypercalciuria. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:4937–43
- <sup>44</sup> Krieger NS, Stathopoulos VM, Bushinsky DA. Increased sensitivity to 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> in bone from genetic hypercalciuric rats. *Am J Physiol* 1996;271:C130–5
- <sup>45</sup> Bushinsky DA, Neumann KJ, Asplin J, Krieger NS. Alendronate decreases urine calcium and supersaturation in genetic hypercalciuric rats. *Kidney Int* 1999;55:234–43
- <sup>46</sup> Weisinger JR, Alonzo E, Machado C, Carlini R, Martinis R, Paz-Martinez V, Bellorin-Font E. Role of bones in the physiopathology of idiopathic hypercalciuria: effect of amino-bisphosphonate alendronate. *Medicina* 1997;57(Suppl 1): 45–8
- <sup>47</sup> Freundlich M, Alon US. Bisphosphonates in children with hypercalciuria and reduced bone mineral density. *Pediatr Nephrol* 2008;23:2215–20.
- <sup>48</sup> Coe FL, Favus MJ, Crockett T et al. Effects of low-calcium diet on urine calcium excretion, parathyroid function and serum 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> levels in patients with idiopathic hypercalciuria and in normal subjects. *Am J Med* 1982;72:25–32
- <sup>49</sup> Stapleton FB, Langman CB, Bittle J, Miller LA. Increased serum concentrations of 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D in children with fasting hypercalciuria. *J Pediatr* 1987;110:234–7
- <sup>50</sup> Stapleton FB, Jones DP, Miller LA. Evaluation of bone metabolism in children with hypercalciuria. *Semin Nephrol* 1989;9:75–8
- <sup>51</sup> Asplin JR, Donahue S, Kinder J, Coe FL. Urine calcium excretion predicts bone loss in idiopathic hypercalciuria. *Kidney Int* 2006;70:1463–7
- <sup>52</sup> Vezzoli G, Rubinacci A, Bianchin C, Arcidiacono T, Giambona S, Mignogna G, Fochesato E, Terranegra A, Cusi D, Soldati L. Intestinal calcium absorption is associated with bone mass in stone-forming women with idiopathic hypercalciuria. *Am J Kidney Dis* 2003;42:1177–83
- <sup>53</sup> Pietschmann F, Breslau NA, Pak CY. Reduced vertebral bone density in hypercalciuric nephrolithiasis. *J Bone Miner Res* 1992;7:1383–8
- <sup>54</sup> Jaeger P, Lippuner K, Casez JP, Hess B, Ackermann D, Hug C. Low bone mass in idiopathic renal stone formers: magnitude and significance. *J Bone Miner Res* 1994; 9:1525–32

- 
- <sup>55</sup> Barkin J, Wilson DR, Manuel MA, Bayley A, Murray T, Harrison J. Bone mineral content in idiopathic calcium nephrolithiasis. *Miner Electrolyte Metab* 1985;11:19–24
- <sup>56</sup> Penido MG, Lima EM, Marino VS, Tupinamba AL, Franca A, Souto MF. Bone alterations in children with idiopathic hypercalciuria at the time of diagnosis. *Pediatr Nephrol* 2003;18:133–9
- <sup>57</sup> Penido MG, Lima EM, Souto MF, Marino VS, Tupinamba AL, Franca A. Hypocitraturia: a risk factor for reduced bone mineral density in idiopathic hypercalciuria? *Pediatr Nephrol* 2006; 21:74–8
- <sup>58</sup> Garcia-Nieto V, Ferrandez C, Monge M, de Sequera M, Rodrigo MD. Bone mineral density in pediatric patients with idiopathic hypercalciuria. *Pediatr Nephrol* 1997;11:578–83
- <sup>59</sup> Freundlich M, Alonzo E, Bellorin-Font E, Weisinger JR. Reduced bone mass in children with idiopathic hypercalciuria and in their asymptomatic mothers. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:1396–401
- <sup>60</sup> Borghi L, Meschi T, Guerra A et al. Vertebral mineral content in diet-dependent and diet-independent hypercalciuria. *J Urol* 1991;146:1334–8
- <sup>61</sup> Lawoyin S, Sismilich S, Browne R, Pak CY. Bone mineral content in patients with calcium urolithiasis. *Metabolism* 1979;28:1250–4
- <sup>62</sup> Lindergard B, Colleen S, Mansson W, Rademark C, Rogland B. Calcium-loading test and bone disease in patients with urolithiasis. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 1983;20:460–5
- <sup>63</sup> Carrie Fassler AL, Bonjour JP. Osteoporosis as a pediatric problem. *Pediatr Clin North Am* 1995;42:811–24
- <sup>64</sup> Pacifici R, Rothstein M, Rifas L et al. Increased interleukin-1 activity and decreased vertebral bone density in patients with fasting idiopathic hypercalciuria. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:138–45.
- <sup>65</sup> Bataille P, Achard JM, Fournier A et al. Diet, vitamin D and vertebral mineral density in hypercalciuric calcium stone formers. *Kidney Int* 1991;39:1193–205.
- <sup>66</sup> Kerstetter JE, Allen LH. Dietary protein increases urinary calcium. *J Nutr* 1990;120:1134–6.
- <sup>67</sup> Frick KK, Bushinsky DA. Molecular mechanisms of primary hypercalciuria. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:1082–95.
- <sup>68</sup> Heilberg IP, Weisinger JR. Bone disease in idiopathic hypercalciuria. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006;15:394–402.
- <sup>69</sup> Bordier P, Ryckewart A, Gueris J et al. On the pathogenesis of so-called idiopathic hypercalciuria. *Am J Med* 1977;63:398–409.
- <sup>70</sup> De Vernejoul MC, Hioco D, Villaumey J et al. Etude histomorpométrique osseuse au cours de l'hypercalciurie idiopathique. *Rev Rhum* 1981;48:389–395.
- <sup>71</sup> Malluche HH, Tschoepe W, Ritz E et al. Abnormal bone histology in idiopathic hypercalciuria. *J Clin Endocrinol Metab* 1980;50:654–658.
- <sup>72</sup> Steiniche T, Mosekilde L, Christensen MS et al. A histomorphometric determination of iliac bone remodeling in patients with recurrent renal stone formation and idiopathic hypercalciuria. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1989;97:309–316.
- <sup>73</sup> Heilberg IP, Martini LA, Szejnfeld VL et al. Bone disease in calcium stone forming patients. *Clin Nephrol* 1994;42:175–182.
- <sup>74</sup> Da Silva AMM, Dos Reis LM, Pereira RC et al. Bone histomorphometric and bone mineral content in idiopathic hypercalciuria patients. XIIth International Congress of Nephrology; Jerusalem, Israel 1993. p. 620(abstr)

- 
- <sup>75</sup> Bataille P, Hardy P, Marie A et al. Decreased bone formation in idiopathic hypercalciuric calcium stone formers explains reduced bone density. *J Bone Min Res* 1997;10(suppl1):401.
- <sup>76</sup> Alon U, Warady BA, Hellerstein S. Hypercalciuria in the frequency-dysuria syndrome of childhood. *J Pediatr* 1990;116:103–5
- <sup>77</sup> Stapleton FB, Roy S 3rd, Noe HN, Jerkins G. Hypercalciuria in children with hematuria. *N Engl J Med* 1984;310:1345–8
- <sup>78</sup> Butani L, Kalia A. Idiopathic hypercalciuria in children how valid are the existing diagnostic criteria? *Pediatr Nephrol* 2004;19:577–82
- <sup>79</sup> Alon US, Zimmerman H, Alon M. Evaluation and treatment of pediatric idiopathic urolithiasis-revisited. *Pediatr Nephrol* 2004;19:516–20
- <sup>80</sup> Walter SJ, Shirley DG. The effect of chronic hydrochlorothiazide administration on renal function in the rat. *Clin Sci (Lond)* 1986; 70:379–87.
- <sup>81</sup> Costanzo LS, Windhager EE. Calcium and sodium transport by the distal convoluted tubule of the rat. *Am J Physiol* 1978;235:F492–506
- <sup>82</sup> Jang HR, Lee JW, Heo NJ et al. Effects of thiazide on the expression of transient receptor potential vanilloid 5 and calbindin-D28K in a hypercalciuria rat model. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:355 A
- <sup>83</sup> Cole DE, Peltekova VD, Rubin LA et al. A986S polymorphism of the calcium-sensing receptor and circulating calcium concentrations. *Lancet* 1999;353:112–5
- <sup>84</sup> Heath H , Odelberg S, Jackson CE et al. 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.
- <sup>85</sup> Pollak MR, Brown EM, Chou YH et al. Mutations in the human Ca(2+)-sensing receptor gene cause familial hypocalciuric hypercalcemia and neonatal severe hyperparathyroidism. *Cell* 1993;75:1297–303
- <sup>86</sup> Blankenship KA, Williams JJ, Lawrence MS et al. The calcium-sensing receptor regulates calcium absorption in MDCK cells by inhibition of PMCA. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001;280:F815–22
- <sup>87</sup> Hebert SC. Extracellular calcium-sensing receptor: implications for calcium and magnesium handling in the kidney. *Kidney Int* 1996;50:2129–39
- <sup>88</sup> Petrucci M, Scott P, Ouimet D, Trouvé ML et al. Evaluation of the calcium-sensing receptor gene in idiopathic hypercalciuria and calcium nephrolithiasis. *Kidney Int* 2000;58:38–42.
- <sup>89</sup> Bonen DK, Schmid TM. Elevated extracellular calcium concentrations induce type X collagen synthesis in chondrocyte cultures. *J Cell Biol* 1991;115:1171-8
- <sup>90</sup> Zuscik MJ, D'Souza M, Ionescu AM, Gunter KK et al. Growth plate chondrocyte maturation is regulated by basal intracellular calcium. *Exp Cell Res* 2002;276:310-9.
- <sup>91</sup> Mancilla EE, Galindo M, Fertilio B, Herrera M et al. L-type calcium channels in growth plate chondrocytes participate in endochondral ossification. *J Cell Biochem* 2007;101:389-98.
- <sup>92</sup> Ishii H, Wada M, Furuya Y, Nagano N, Nemeth EF, 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

- 
- <sup>93</sup> Wu S, Palese T, Mishra OP, Delivoria-Papadopoulos M, De Luca F. Effects of Ca<sup>2+</sup> sensing receptor activation in the growth plate. *FASEB J* 2004;18:143-5.
- <sup>94</sup> Nakagawa K, Pérez EC, Oh J, Santos F et al. Cinacalcet does not affect longitudinal growth but increases body weight gain in experimental uraemia. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:2761-7.
- <sup>95</sup> Gunn IR, Gaffney D. Clinical and laboratory features of calcium-sensing receptor disorders: a systematic review. *Ann Clin Biochem* 2004 ;41:441-58.
- <sup>96</sup> Scillitani A, Guarnieri V, De Geronimo S, Muscarella LA et al. Blood ionized calcium is associated with clustered polymorphisms in the carboxyl-terminal tail of the calcium-sensing receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:5634-8.
- <sup>97</sup> Corbetta S, Eller-Vainicher C, Filopanti M, Saeli P et al. R990G polymorphism of the calcium-sensing receptor and renal calcium excretion in patients with primary hyperparathyroidism. *Eur J Endocrinol* 2006;155:687-92.
- <sup>98</sup> Yano S, Sugimoto T, Kanzawa M, Tsukamoto T et al. Association of polymorphic alleles of the calcium-sensing receptor gene with parathyroid hormone secretion in hemodialysis patients. *Nephron* 2000;85:317-23.
- <sup>99</sup> Yokoyama K, Shigematsu T, Tsukada T, Hara S et al. Calcium-sensing receptor gene polymorphism affects the parathyroid response to moderate hypercalcemic suppression in patients with end-stage renal disease. *Clin Nephrol* 2002;57:131-5.
- <sup>100</sup> Yamauchi M, Sugimoto T, Yamaguchi T, Yano S et al. Association of polymorphic alleles of the calcium-sensing receptor gene with the clinical severity of primary hyperparathyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001;55:373-9
- <sup>101</sup> Kelly C, Gunn IR, Gaffney D, Devgun MS. Serum calcium, urine calcium and polymorphisms of the calcium sensing receptor gene. *Ann Clin Biochem* 2006;43:503-6.
- <sup>102</sup> Harding B, Curley AJ, Hannan FM, Christie PT et al. Functional characterization of calcium sensing receptor polymorphisms and absence of association with indices of calcium homeostasis and bone mineral density. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006;65:598-605.
- <sup>103</sup> Urena P, Frazao JM. Calcimimetic agents: review and perspectives. *Kidney Int Suppl* 2003;85:91-6.
- <sup>104</sup> Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR et al. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2001;344:1434-41.
- <sup>105</sup> 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;105:1595-604.
- <sup>106</sup> Lalonde RL, Gaudreault J, Karhu DA, Marriott TB. Mixed-effects modeling of the pharmacodynamic response to the calcimimetic agent R-568. *Clin Pharmacol Ther* 1999;65:40-9.
- <sup>107</sup> Silverberg SJ, Bone HG 3rd, Marriott TB et al. Short-term inhibition of parathyroid hormone secretion by a calcium-receptor agonist in patients with primary hyperparathyroidism. *N Engl J Med* 1997 Nov 20;337(21):1506-10.
- <sup>108</sup> Antonsen JE, Sherrard DJ, Andress DL. A calcimimetic agent acutely suppresses parathyroid hormone levels in patients with chronic renal failure. Rapid communication. *Kidney Int* 1998;53:223-7.
- <sup>109</sup> Goodman WG, Frazao JM, Goodkin DA, Turner SA, Liu W, Coburn JW. A calcimimetic agent lowers plasma parathyroid hormone levels in patients with secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2000;58:436-45.
- <sup>110</sup> Goodman et al, *J Am Soc Nephrol* 11:576A,2000

- 
- <sup>111</sup> Goodman WG, Hladik GA, Turner SA et al. The Calcimimetic agent AMG 073 lowers plasma parathyroid hormone levels in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:1017-24.
- <sup>112</sup> Lindberg et al. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:578A
- <sup>113</sup> Quarles et al. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:773A
- <sup>114</sup> Drueke et al. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:764A
- <sup>115</sup> Block et al. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:572A
- <sup>116</sup> Malluche HH, Monier-Faugere MC, Wang G et al. An assessment of cinacalcet HCl effects on bone histology in dialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Clin Nephrol* 2008;69:269-78
- <sup>117</sup> Colloton M, Shatzen E, Miller G et al. Cinacalcet HCl attenuates parathyroid hyperplasia in a rat model of secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2005 ;67:467–76.
- <sup>118</sup> Nemeth EF, Heaton WH, Miller M et al. Pharmacodynamics of the type II calcimimetic compound cinacalcet HCl. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;308:627-35.
- <sup>119</sup> Brown EM and MacLeod RJ. Extracellular calcium sensing and extracellular calcium signaling. *Physiol Rev* 2001;81: 239–97
- <sup>120</sup> Kumar GN, Sproul C, Poppe L et al. Metabolism and disposition of calcimimetic agent cinacalcet HCl in humans and animal models. *Drug Metab Dispos* 2004;32:1491-500
- <sup>121</sup> Fox J, Lowe SH, Conklin RL, Petty BA, and Nemeth EF. NPS R-568: a type II calcimimetic compound that acts on parathyroid cell Ca<sub>2</sub> receptor of rats to reduce plasma levels of parathyroid hormone and Ca<sup>2+</sup>. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;290:473–479.
- <sup>122</sup> Mukarami Y, Furuya Y, Wada M, Sakai T, Nagano N. Pharmacological properties of the calcimimetic compound NPS R-568 in vitro and in vivo. *Clin Exp Nephrol* 2000; 4: 293–9.
- <sup>123</sup> Hebert SC. Extracellular calcium-sensing receptor: implications for calcium and magnesium handling in the kidney. *Kidney Int* 1996 Dec;50:2129–39
- <sup>124</sup> van Abel M, Hoenderop JG, van der Kemp AW, et al. Coordinated control of renal Ca<sup>(2+)</sup> transport proteins by parathyroid hormone. *Kidney Int* 2005;68:1708-21.
- <sup>125</sup> 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;111:1021-8.
- <sup>126</sup> D'Souza-Li L. The calcium-sensing receptor and related diseases. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2006;50:628-39.
- <sup>127</sup> Attie MF, Gill JR Jr., Stock JL, Spiegel AM, Downs RW Jr., Levine MA, et al. Urinary calcium excretion in familial hypocalciuric hypercalcemia. Persistence of relative hypocalciuria after induction of hyperparathyroidism. *J Clin Invest* 1983;72:667-76.
- <sup>128</sup> Serra AL, Schwarz AA, Wick FH, Marti HP, Wüthrich RP. Successful treatment of hypercalcemia with cinacalcet in renal transplant recipients with persistent hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20:1315-9.

- 
- <sup>129</sup> Szwarc I, Argilés A, Garrigue V et al. Cinacalcet chloride is efficient and safe in renal transplant recipients with posttransplant hyperparathyroidism. *Transplantation* 2006;82:675-80.
- <sup>130</sup> Borchhardt KA, Heinzl H, Mayerwöger E, Hörl WH, Haas M, Sunder-Plassmann G. Cinacalcet increases calcium excretion in hypercalcemic hyperparathyroidism after kidney transplantation. *Transplantation* 2008;86:919-24.
- <sup>131</sup> Bushinsky DA, Frick KK, Nehrke K. Genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006;15:403-18.
- <sup>132</sup> Quarles DL, Sherrard DJ, Adler S et al. The calcimimetic AMG 073 as a potential treatment for secondary hyperparathyroidism of end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14:575–583.
- <sup>133</sup> Lindberg JS, Sharon MM, Goodman WG et al. The calcimimetic cinacalcet HCl reduces parathyroid hormone and Ca<sup>2+</sup>-phosphorus in secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2003; 63:248–254.
- <sup>134</sup> Ba J, Brown D, Friedman PA. Calcium-sensing receptor regulation of PTH-inhibitable proximal tubule phosphate transport. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003;285:F1233-43.
- <sup>135</sup> Brown AJ, Zhong M, Finch J et al. Rat calcium-sensing receptor is regulated by vitamin D but not by calcium. *Am J Physiol* 1996;270:F454-60.
- <sup>136</sup> Canaff L, Hundy GN. Human calcium-sensing receptor gene. Vitamin D response elements in promoters P1 and P2 confer transcriptional responsiveness to 1,25-dihydroxyvitamin D. *J Biol Chem* 2002;277:30337-50.
- <sup>137</sup> Motoyama HI, Friedman PA. Calcium sensing receptor regulation of PTH-dependent calcium absorption by mouse cortical ascending limbs. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 283: F399–F406
- <sup>138</sup> Ikari A, Okude C, Sawada H, Sasaki Y et al. Activation of a polyvalent cation-sensing receptor decreases magnesium transport via claudin-16. *Biochim Biophys Acta* 2008;1778:283-90.
- <sup>139</sup> Hebert SC, Brown EM, Harris HW. Role of the Ca<sup>(2+)</sup>-sensing receptor in divalent mineral ion homeostasis. *J Exp Biol* 1997;200:295-302.
- <sup>140</sup> [http://www.sensipar.com/patient/pdf/sensipar\\_pi.pdf](http://www.sensipar.com/patient/pdf/sensipar_pi.pdf)
- <sup>141</sup> Kavukçu S, Soyul A, Türkmen MA, Sarioglu S. Hypercalciuria preceding IgA nephropathy in a child with haematuria. *Scand J Urol Nephrol* 1999;33:265-7.
- <sup>142</sup> Rodman DM, Reese K, Harral J et al. Low-voltage-activated (T-type) calcium channels control proliferation of human pulmonary artery myocytes. *Circ Res* 2005;96:864–72.
- <sup>143</sup> Cove-Smith A, Hendry BM. The regulation of mesangial cell proliferation. *Nephron Exp Nephrol* 2008;108:e74–9.
- <sup>144</sup> Kahl CR, Means AR. Regulation of cell cycle progression by calcium/calmodulin-dependent pathways. *Endocr Rev* 2003;24:719–36.
- <sup>145</sup> McNeil SE, Hobson SA, Nipper V, Rodland KD. Functional calcium-sensing receptors in rat fibroblasts are required for activation of SRC kinase and mitogen-activated protein kinase in response to extracellular calcium. *J Biol Chem* 1998 Jan 9;273:1114-20.
- <sup>146</sup> Yamaguchi T, Yamauchi M, Sugimoto T et al. The extracellular calcium Ca<sup>2+</sup>-sensing receptor is expressed in myeloma cells and modulates cell proliferation. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;299:532–8.



- 
- <sup>147</sup> Dvorak MM, Siddiqua A, Ward DT et al. Physiological changes in extracellular calcium concentration directly control osteoblast function in the absence of calciotropic hormones. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 Apr 6;101:5140–5.
- <sup>148</sup> Hobson SA, McNeil SE, Lee F, Rodland KD. Signal transduction mechanisms linking increased extracellular calcium to proliferation in ovarian surface epithelial cells. *Exp Cell Res* 2000;258:1-11.
- <sup>149</sup> Caride AJ, Chini EN, Homma S, Dousa TP, Penniston JT. 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
- <sup>150</sup> Riccardi D, Lee WS, Lee K, Segre GV, Brown EM, Hebert SC. Localization of the extracellular Ca(2+)-sensing receptor and PTH/PTHrP receptor in rat kidney. *Am J Physiol* 1996;271:F951–6
- <sup>151</sup> Awata H, Huang C, Handlogten ME, Miller RT. Interaction of the calcium-sensing receptor and filamin, a potential scaffolding protein. *J Biol Chem* 2001;276:34871-9.
- <sup>152</sup> Sakwe AM, Larsson M, Rask L. Involvement of protein kinase C-alpha and -epsilon in extracellular Ca(2+) signalling mediated by the calcium sensing receptor. *Exp Cell Res* 2004;297:560–73
- <sup>153</sup> Yamaguchi T, Olozak I, Chattopadhyay N, Butters RR et al. Expression of extracellular calcium (Ca<sup>2+</sup>)-sensing receptor in human peripheral blood monocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;246:501-6.
- <sup>154</sup> Yamaguchi T, Kifor O, Chattopadhyay N, Bai M, Brown EM. Extracellular calcium (Ca<sup>2+</sup>)-sensing receptor in a mouse monocyte-macrophage cell line (J774): potential mediator of the actions of Ca<sup>2+</sup> on the function of J774 cells. *J Bone Miner Res* 1998;13:1390-7.
- <sup>155</sup> Olszak IT, Poznansky MC, Evans RH, Olson D et al. Extracellular calcium elicits a chemokinetic response from monocytes in vitro and in vivo. *J Clin Invest* 2000;105:1299-305.
- <sup>156</sup> Quarles LD. Cation sensing receptors in bone: a novel paradigm for regulating bone remodeling? *J Bone Miner Res* 1997;12:1971-4.
- <sup>157</sup> Yamaguchi T, Chattopadhyay N, Kifor O, Ye C et al. Expression of extracellular calcium-sensing receptor in human osteoblastic MG-63 cell line. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;280:C382-93.
- <sup>158</sup> Chang W, Tu C, Chen TH, Komuves L et al. Expression and signal transduction of calcium-sensing receptors in cartilage and bone. *Endocrinology* 1999;140:5883-93.
- <sup>159</sup> Pi M, Faber P, Ekema G, Jackson PD et al. Identification of a novel extracellular cation-sensing G-protein-coupled receptor. *J Biol Chem* 2005;280:40201-9.
- <sup>160</sup> Corbetta S, Eller-Vainicher C, Filopanti M, Saeli P et al. R990G polymorphism of the calcium-sensing receptor and renal calcium excretion in patients with primary hyperparathyroidism. *Eur J Endocrinol* 2006;155:687-92.
- <sup>161</sup> Scillitani A, Guarnieri V, Battista C, De Geronimo S 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;92:277-83.
- <sup>162</sup> Audran M, Legrand E. Hypercalciuria. *Joint Bone Spine* 2000;67:509-15.
- <sup>163</sup> Grynepas M, Waldman S, Holmyard D, Bushinsky DA. Genetic Hypercalciuric Stone-Forming Rats Have a Primary Decrease in Bone Mineral Density and Strength. *J Bone Miner Res*. 2009 Mar 3. [Epub ahead of print]
- <sup>164</sup> Rubin MR, Dempster DW, Zhou H, Shane E et al. Dynamic and structural properties of the skeleton in hypoparathyroidism. *J Bone Miner Res* 2008;23:2018-24.

---

<sup>165</sup> Miao D, Li J, Xue Y, Su H, Karaplis AC, Goltzman D. Parathyroid hormone-related peptide is required for increased trabecular bone volume in parathyroid hormone-null mice. *Endocrinology*. 2004;145:3554-62.

<sup>166</sup> Calvi LM, Sims NA, Hunzelman JL, Knight MC et al. Activated parathyroid hormone/parathyroid hormone-related protein receptor in osteoblastic cells differentially affects cortical and trabecular bone. *J Clin Invest* 2001;107:277-86.

<sup>167</sup> Couttenye MM, D'Haese PC, Verschoren WJ et al. Low bone turnover in patients with renal failure. *Kidney Int Suppl* 1999;73:S70-6.

<sup>168</sup> Bihorac A, Ozener C, Akoglu E, Kullu S. Tetracycline-induced acute interstitial nephritis as a cause of acute renal failure. *Nephron* 1999;81:72-5

<sup>169</sup> Touvay C, Chapelat M, Etienne A, Baranes J, Clostre F, DeFeudis FV. Effects of different diuretics on tetracycline-induced hyperuraemia and hypercreatininaemia in the rat. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1982;257:307-18.