

Revisión breve

Rol de las claudinas en el manejo renal del calcio

Armando Luis Negri*

Departamento de Fisiología, Universidad del Salvador, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, CABA, Argentina

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 27 de octubre de 2014

Aceptado el 20 de febrero de 2015

On-line el 22 de julio de 2015

Palabras clave:

Claudinas

Reabsorción renal de calcio

Receptor sensor de calcio

Vía paracelular

R E S U M E N

Los canales paracelulares que se encuentran en las uniones estrechas tienen un papel fundamental en los flujos iónicos transepiteliales. Esta vía está formada por un gran número de proteínas, entre ellas, las claudinas. En el epitelio renal, las claudinas confieren selectividad iónica a la unión estrecha. La rama gruesa ascendente de Henle (RGAH) es el segmento tubular renal más importante en la reabsorción tubular de calcio. Sus células forman una barrera impermeable al agua, transportan activamente sodio y cloro por la vía transcelular y proveen una vía paracelular para la reabsorción selectiva de calcio. Varios estudios han llevado a un modelo en el que distintas claudinas forman el canal paracelular, especialmente la claudina 16 y 19. La claudina 16 media la permeabilidad paracelular catiónica en la RGAH mientras que la claudina 19 incrementa la selectividad catiónica de la claudina 16 bloqueando la permeabilidad aniónica. Recientemente se ha encontrado que la actividad promotora de la claudina 14 está localizada exclusivamente en la RAGH. Cuando se coexpresa con la claudina 16, la claudina 14 inhibe la permeabilidad de la claudina 16, reduciendo la permeabilidad paracelular al calcio. El proceso de reabsorción de calcio en la RGAH está estrechamente regulado por el receptor sensor de calcio (CaSR) que monitorea los niveles circulantes de Ca ajustando la tasa de excreción renal de forma acorde. Dos micro-ARN, los mir-9 y mir-374, son regulados directamente por el CaSR. Los miR-9 y miR-374 suprimen la traslación del ARNm de la claudina 14 e inducen su decaimiento.

© 2015 The Author. Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de Sociedad Española de Nefrología. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Role of claudins in renal calcium handling

A B S T R A C T

Paracellular channels occurring in tight junctions play a major role in transepithelial ionic flows. This pathway includes a high number of proteins, such as claudins. Within renal epithelium, claudins result in an ionic selectivity in tight junctions. Ascending thick limb of loop of Henle (ATLH) is the most important segment for calcium reabsorption in renal tubules. Its cells create a water-proof barrier, actively transport sodium and chlorine through a transcellular pathway, and provide a paracellular pathway for selective calcium reabsorption.

Keywords:

Claudins

Renal calcium reabsorption

Calcium sensor receptor

Paracellular pathway

* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: armando.negri@gmail.com, negri@casasco.com.ar

<http://dx.doi.org/10.1016/j.nefro.2015.06.011>

0211-6995/© 2015 The Author. Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de Sociedad Española de Nefrología. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Several studies have led to a model of paracellular channel consisting of various claudins, particularly claudin-16 and 19. Claudin-16 mediates cationic paracellular permeability in ATLH, whereas claudin-19 increases cationic selectivity of claudin-16 by blocking anionic permeability. Recent studies have shown that claudin-14 promoting activity is only located in ATLH. When co-expressed with claudin-16, claudin-14 inhibits the permeability of claudin-16 and reduces paracellular permeability to calcium. Calcium reabsorption process in ATLH is closely regulated by calcium sensor receptor (CaSR), which monitors circulating Ca levels and adjusts renal excretion rate accordingly. Two microRNA, miR-9 and miR-374, are directly regulated by CaSR. Thus, miR-9 and miR-374 suppress mRNA translation for claudin-14 and induce claudin-14 decline.

© 2015 The Author. Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of Sociedad Española de Nefrología. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

El transporte transepitelial puede ocurrir por vía transcelular, a través de las células epiteliales, o por vía paracelular, o sea, entre células epiteliales. En la última década se ha acumulado evidencia que apoya el papel fundamental que tienen los canales paracelulares en los flujos iónicos transepiteliales. La vía o canal paracelular se encuentra en las uniones estrechas (zonula occludens) de los epitelios de los vertebrados. Las uniones estrechas constituyen la estructura más apical del complejo de unión intercelular. Las uniones estrechas están compuestas por un gran número de proteínas diferentes. De ellas, las proteínas de membrana probablemente juegan un papel primordial en determinar la permeabilidad paracelular, ya que sus dominios extracelulares protruyen dentro del espacio paracelular, con una posición ideal para influir el movimiento paracelular de solutos. Las proteínas integrales de membrana de las uniones estrechas incluyen a las ocludinas, las moléculas de adhesión de uniones (junctional adhesion molecules o JAM) y las claudinas. Las claudinas forman una gran familia con por lo menos 26 miembros, identificadas por primera vez en 1998¹. Posteriormente se encontró que la claudina 16 o paracelina 1 estaba mutada en la hipomagnesemia hipercalcémica familiar (FHHNC)²: ya que la FHHNC parecía deberse a un defecto en la reabsorción paracelular de calcio y magnesio en la rama gruesa ascendente de Henle (RGAH), esta fue la primera indicación de que quizás la claudina 16, y por extensión las claudinas en general, podían jugar un rol importante en la permeabilidad iónica paracelular del riñón. En un estudio reciente de asociación genómica se identificó a la claudina 14 como un gen de riesgo mayor para desarrollar nefrolitiasis hipercalcémica³, haciendo de esta proteína otro candidato comprometido en la reabsorción de cationes bivalentes. Toda esta información ha hecho que revisáramos la importancia de las claudinas presentes en el riñón y su regulación en la reabsorción tubular de calcio.

Estructura de las claudinas

Las claudinas son proteínas de 21 a 28 kD con 4 dominios transmembrana, 2 asas extracelulares, 2 dominios citoplasmáticos —uno amino y el otro carboxilo terminal— y una corta vuelta citoplasmática. El primera asa extracelular (ECL1)

de las claudinas consiste en aproximadamente 50 aminoácidos con un motivo común (GLWCC). Contiene aminoácidos cargados positiva y negativamente. Las cargas en el ECL1 regulan la selectividad iónica a través de efectos electrostáticos. La segunda asa extracelular (ECL2) consiste en aproximadamente 25 aminoácidos con un motivo predicho de hélice-vuelta-hélice que media las interacciones intracelulares de las claudinas. El dominio C terminal contiene el dominio de unión PDZ que es crítico para la interacción con la proteína submembrana ZO-1 y su correcta localización en la unión estrecha. En el epitelio renal, las claudinas han mostrado conferir selectividad iónica a la unión estrecha, resultando en diferencias en la resistencia transepitelial y en las permeabilidades paracelulares. Por ejemplo: las claudinas 4, 5, 8, 11 y 14 selectivamente disminuyen la permeabilidad a cationes a través de las uniones estrechas, especialmente al sodio, potasio hidrogenión y amonio; las claudinas 2, 15 y 16 incrementan la permeabilidad a cationes, específicamente, sodio, potasio calcio y magnesio⁴.

Expresión de las claudinas en los diferentes segmentos tubulares

La mayor parte de las claudinas están expresadas en el túbulo renal. Cada segmento y tipo celular expresa múltiples isoformas. Se cree que el grupo específico de claudinas expresadas por cada segmento tubular determina las propiedades de permeabilidad únicas de cada segmento tubular⁵. La claudina 2 está altamente expresada en el túbulo proximal, con sus mayores niveles en su parte terminal y comienzo de la rama descendente delgada de Henle, donde su responsabilidad fundamental es formar poros paracelulares, catión selectivos, de alta conductabilidad para el sodio. La claudina 10a y la claudina 17 son ambas conocidas por formar poros paracelulares anión selectivos y son potenciales candidatas a mediar la reabsorción paracelular de cloro en la parte distal de este segmento tubular. Las claudinas 16 y 19 están expresadas en la rama delgada y gruesa ascendente de Henle y son claramente requeridas para la reabsorción paracelular de cationes bivalentes. Algunos investigadores creen que estas 2 claudinas forman el poro paracelular que media la permeabilidad del calcio y magnesio en la RGAH. Otros como Hou et al. han encontrado que la claudina 16 incrementa la permeabilidad al sodio mientras

que la claudina 19 disminuye la permeabilidad al cloro, lo que genera un potencial dilucional que es la fuerza que moviliza el calcio y magnesio por vía paracelular. El segmento aldosterona sensible del nefrón distal, donde hay reabsorción activa de sodio y secreción de potasio e hidrogenión, el papel principal de la vía paracelular es actuar de barrera catiónica para prevenir la retrodifusión de los cationes transportados en forma activa. En este segmento se expresan las claudinas 3, 4, 7, 8 y 10. Las claudinas 4 y 8 actúan como barreras catiónicas e interactúan de tal manera que la claudina 8 es requerida para que la claudina-4 se ensamble dentro de la unión estrecha. La claudina 7 se comportaría como un poro de Cl^- y sería responsable de la conductabilidad paracelular para este anión en este segmento tubular.

Manejo renal del calcio

En promedio el riñón reabsorbe diariamente del 97 al 99% de la carga filtrada de calcio. De este calcio reabsorbido, del 60 al 65% se reabsorbe en el túbulo proximal por vía paracelular y del 25 al 30% en la RGAH también por vía paracelular. El túbulo contorneado distal reabsorbe el restante 8 a 10% del calcio filtrado, pero por vía transcelular⁶. Este proceso transcelular consta de 3 etapas: primero, la entrada apical de calcio a través del canal TRPV5 (transient receptor protein-vanilloid 5 channel); segundo la difusión intracelular del calcio desde la membrana apical a la basolateral unido a una proteína llamada calbindina-D28K; finalmente el calcio sale a través de la membrana basolateral a través de un intercambiador Na/Ca (NCX1) y de una calcio ATPasa (PMCA1b)⁷.

Reabsorción tubular proximal de calcio

El túbulo proximal del riñón adulto es un epitelio muy permeable que reabsorbe hasta 2/3 de toda la carga de cloro filtrada así como 2/3 del volumen del ultrafiltrado. Casi la mitad de todo el ClNa reabsorbido lo hace por vía paracelular. La primera porción del túbulo proximal reabsorbe sodio en asociación con bicarbonato, de preferencia sobre el cloro, asociado a reabsorción de agua. Esto hace que el líquido tubular que llega a la parte final del segmento S1 y a los segmentos S2 y S3 del túbulo proximal tengan una concentración de cloro mayor que el líquido peritubular. En estas porciones del túbulo proximal, la vía paracelular es preferentemente permeable al cloro, que se reabsorbe por difusión pasiva siguiendo su gradiente de concentración, lo que genera a su vez una potencial luz positiva, que moviliza la reabsorción de sodio también por vía paracelular. La claudina 2, que ha mostrado actuar como poro catiónico paracelular⁸, está altamente expresada en el túbulo proximal⁹ así como en el la rama descendente delgada de Henle, mostrando sus niveles de expresión un incremento axial. La claudina 2 ha mostrado que es capaz de transportar potasio y calcio, lo que la hace un excelente candidato para ser un poro paracelular que permite reabsorber cationes. Esto fue confirmado por Muto et al. usando un modelo de knockout en ratones para claudina 2¹⁰. Estos animales tenían disminuida la permeabilidad catiónica y presentaban reducción de la reabsorción de ClNa y agua cuando se medían en túbulos proximales perfundidos aislados. En los estudios de balance en

animales enteros, las excreciones fraccionales de sodio y cloro eran comparables a las de los ratones salvajes en condiciones normales. Sin embargo, cuando se los sometía a dietas altas en sal las excreciones estaban significativamente elevadas. Estos ratones knockout no tenían cambios sustanciales en el metabolismo del K pero eran hipercalcémicos, indicando que la claudina 2 podría mediar la reabsorción paracelular del calcio en el túbulo proximal. Además de la claudina 2, los túbulos proximales expresan claudinas 10a, 12 y 17. Las claudinas 10a y 17 pueden funcionar como poros selectivos aniónicos y ser responsables de la reabsorción paracelular de cloro. La claudina 12 a nivel intestinal es regulada por la vitamina D y funciona como un poro selectivo para el calcio. En el túbulo proximal podría jugar un rol similar en asociación con la claudina 2.

Reabsorción del calcio en la rama gruesa ascendente de Henle

La RGAH es el segmento tubular renal más importante en la reabsorción tubular de calcio. Las células epiteliales que revisten la RGAH forman una barrera impermeable al agua, transportan activamente sodio y cloro por la vía transcelular y proveen una vía paracelular para la reabsorción selectiva de calcio. El calcio se reabsorbe pasivamente de la luz al espacio intersticial a través de la vía paracelular movido por un gradiente de voltaje transepitelial luz positivo¹¹ (fig. 1). La generación de este voltaje transepitelial se atribuye a 2 mecanismos: 1) la secreción de potasio apical a través del canal renal (renal outer medullary potassium channel [ROMK]) y a la secreción basolateral de cloro a través de los canales de cloro

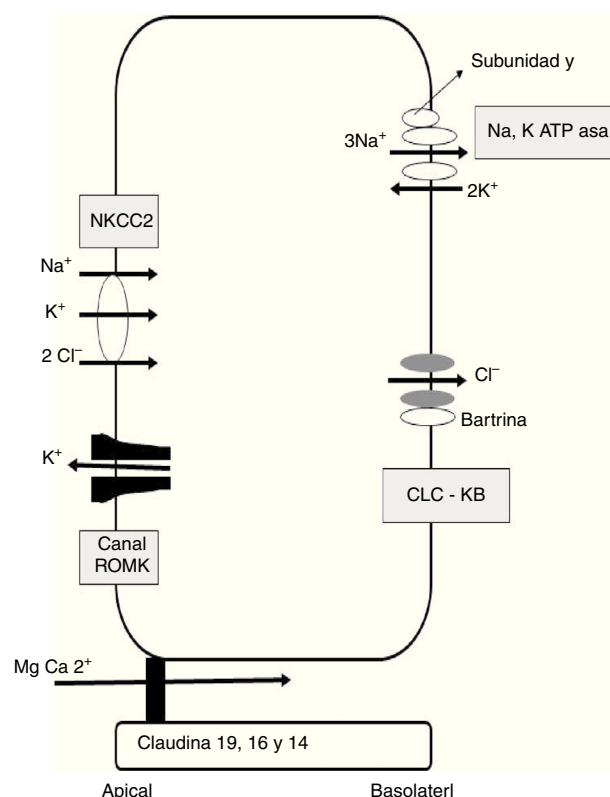


Figura 1 – Célula epitelial que reviste la RGAH: transportes transcelulares y paracelulares.

Kb (ClC-Kb) y bartrina, movidos por la reabsorción de ClNa por vía apical a través del cotransportador Na2ClK (NKCC2) y 2) el voltaje transepitelial de difusión generado por el gradiente de concentración transepitelial de ClNa sobre el canal paracelular catión selectivo en la RGAH. En el primer segmento de RGAH el primer mecanismo provee un voltaje de alrededor de +8 mV, con una contribución mínima del potencial de difusión en este segmento temprano porque todavía no se ha desarrollado el gradiente de concentración. Con la continua reabsorción de ClNa a lo largo del eje de la RGAH, el fluido luminal se diluye y se genera un gran gradiente de concentración del espacio peritubular hacia la luz tubular del segmento distal de la RGAH. Ya que la permeabilidad paracelular de la RGAH es catión-selectiva, el voltaje transepitelial positivo de difusión se sobrepone al voltaje transepitelial de transporte activo y se transforma la principal fuente de fuerza de movimiento para la reabsorción de calcio a través del canal paracelular que ahora se incrementa sustancialmente hasta +30 mV.

Claudinas en el canal paracelular de la rama gruesa ascendente de Henle

Varios estudios han llevado a un modelo en el que las claudinas forman el canal paracelular¹², especialmente 2 de ellas: la claudina 16 o paracelina 1 y la claudina 19. Mientras la claudina 16 está expresada solo en la RGAH del riñón, la claudina 19 tiene una expresión más amplia, encontrándose además de la RGAH del riñón en el epitelio pigmentoso de la retina. La claudina 16 media la permeabilidad paracelular catiónica en la RGAH¹³. La claudina 19 incrementa la selectividad catiónica de la claudina 16, bloqueando la permeabilidad aniónica¹⁴. La selectividad catiónica paracelular es requerida para generar el voltaje transepitelial difusional positivo que mueve la reabsorción de calcio y magnesio en la RGAH¹². Los pacientes con FHHNC presentan mutaciones de las claudinas 16 y 19. La similitud fenotípica de ambas mutaciones se explica por la interacción directa entre ambas proteínas¹⁵. Sin embargo las mutaciones de la claudina 19 se acompañan invariablemente de severas anomalías oculares (incluyendo miopía severa, nistagmo o coloboma macular) por lo que ese fenotipo se lo conoce como FHHNC con severo compromiso ocular¹⁶. Recientemente se efectuó un estudio de análisis de asociación genómica amplia (genome wide association analysis) en 37.734 pacientes litiasicos hipercalcúricos y 42.510 controles no litiasicos en Islandia y Holanda³. Cuatro variantes sinónimas comunes del locus del gen de la claudina 14 (polimorfismos genéticos [SNP]) se asociaron en forma significativa con la presencia de litiasis renal. Dos de ellos fueron no exónicos y 2 exónicos. Ambos SNP exónicos mostraron una asociación significativa con disminución de la densidad mineral ósea. La excreción urinaria de calcio fue mayor en los portadores homocigotos de uno de estos polimorfismos comparado con los no portadores. Hasta hace poco la localización de la claudina 14 a nivel renal era controvertida, hasta que Gong et al. encontraron que la actividad promotora de la claudina 14 estaba localizada exclusivamente en la RGAH del riñón murino¹⁷. El ARNm y el nivel de proteína de claudina 14 eran extremadamente bajos en ratones alimentados con una dieta normal. Sin embargo, alimentando a los ratones con dietas altas en calcio se aumentaba marcadamente el ARNm y los niveles de proteína de claudina 14 en la RGAH. De forma consistente con hallazgos previos, la claudina 14 funciona

como una barrera para la permeación paracelular de cationes. Cuando se coexpresa con la claudina 16, la claudina 14 inhibe la permeabilidad de la claudina 16, de gran importancia como canal paracelular catiónico de la RGAH. Los ratones knockout para claudina 14 muestran función renal normal bajo condiciones dietéticas normales. Sin embargo, sus riñones excretan significativamente menos calcio y magnesio que los animales salvajes cuando se los alimenta con dieta rica en calcio¹⁷. La observada asociación entre claudina 14 y nefrolitiasis podría explicarse por una disregulación de la claudina 14 que bloquea el canal de la claudina 16, produciendo un fenotipo variable similar al de la FHHNC.

Sistema integrado de señalización que controla al transporte de calcio en la rama gruesa ascendente de Henle

Como ya mencionamos anteriormente, la RGAH es el principal segmento responsable de la reabsorción tubular de calcio. Las células epiteliales que componen la RGAH forman una barrera impermeable al agua, transportan activamente ClNa por vía transecelular y proveen un canal paracelular para la reabsorción de cationes, entre ellos el calcio. La reabsorción paracelular de calcio es movida por un voltaje transepitelial positivo. Está claro que hay 2 prerrequisitos para la generación de este gradiente: 1) un importante gradiente transepitelial de ClNa dependiente de la acción coordinada del cotransportador Na/K/2Cl (NKCC2), el canal de potasio ROMK, ambos en la membrana apical, y el canal de cloro (ClC-Kb-bartrina) en la membrana basolateral (fig. 1); 2) un canal paracelular catión-selectivo dependiente de la interacción de claudina 16, 19 y 14. Enfermedades monogénicas como el síndrome de Barter y el síndrome de FHHNC son causadas por mutaciones en los genes que subyacen a ambos prerrequisitos. El proceso de reabsorción de calcio en la RGAH está estrechamente regulado por el receptor sensor de calcio (CaSR) que monitorea los niveles circulantes de calcio, ajustando la tasa de excreción renal de forma acorde¹⁸. Recientemente se ha demostrado que el CaSR regula la reabsorción de calcio a través de cambios en la permeabilidad paracelular y no transecelular al calcio¹⁹. Cuando se activa el CaSR por un alto ingreso dietético de calcio o por la inducción de hipercalcemia por administración prolongada de calcitriol, se aumenta la expresión de claudina 14 en la RGAH¹⁹. De forma consistente con esto, la activación del CaSR por la administración del calciomimético cinacalcet lleva a un incremento de 40 veces el ARNm de la claudina 14²⁰. Es más, la sobreexpresión de claudina 14 en 2 modelos separados de cultivos celulares disminuyó el flujo paracelular de calcio, disminuyendo la permeabilidad catiónica. Usando animales que expresan Cre recombinasa motorizado por el promotor de Six2, se generó un ratón que tenía niveles indetectables de ARNm de CaSR en el riñón²¹. Estos animales presentaron niveles de calcio urinario menores que los controles cuando se los desafió con dietas suplementadas en calcio. Esto se asoció a una significativa reducción de la claudina 14. Por lo tanto la activación del CaSR en la RGAH incrementa la expresión de claudina 14 que, a su vez, bloquea la reabsorción paracelular de calcio²⁰. También se han identificado 2 micro-ARN, los mir-9 y mir-374 en las células de

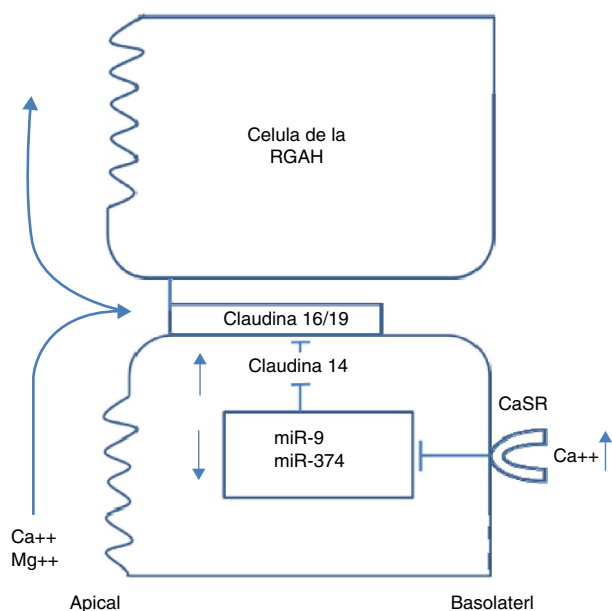


Figura 2 – Regulación de las claudinas de la RGAH por el calcio extracelular.

la RGAH, que son regulados directamente por el CaSR¹⁶. Los miR-9 y miR-374 reconocen sitios de unión parcialmente complementarios localizados en la 3'UTR del ARN de la claudina 14, suprimiendo su traslación e induciendo el decaimiento del ARNm de manera sinérgica. Bajo condiciones dietéticas normales, miR-9 y miR-374 reprimen el nivel de expresión génica de claudina 14 y protegen la función de la claudina 16 en el canal paracelular. Con una ingesta alta en calcio, se activa el CaSR y down-regula los niveles de expresión de los miR-9 y miR-374, que causan un recíproco incremento en los niveles de expresión de claudina 14. El aumento de proteínas de claudina 14 en las uniones estrechas inhibe la selectividad catiónica de la claudina 16 en el canal paracelular, reduciendo la reabsorción de calcio en la RGAH. Gong et al. recientemente reportaron que la administración de inhibidores de la histona desacetilasa (HDAC) disminuye el ARN mensajero para claudina 14 y reduce drásticamente la excreción urinaria de calcio en ratones²². Es más, el tratamiento con los inhibidores HDAC estimulaba la transcripción de los genes que codifican micro-ARN-9 y micro-ARN-374 que han demostrado reprimir la expresión de claudina 14, el regulador negativo de la vía paracelular de reabsorción de calcio (fig. 2).

Conclusión

Las claudinas han sido reconocidas como moléculas críticas en la regulación de la reabsorción paracelular del calcio a nivel renal. En especial las claudinas 14, 16 y 19 forman el canal paracelular de la RGAH que regula la reabsorción de calcio y magnesio en esta porción del túbulo renal, regulado a su vez por el receptor sensor de calcio. Las mutaciones y polimorfismos que afecten a los genes que codifican estas proteínas producirán invariablemente una disregulación en la excreción urinaria de calcio. El conocimiento de la regulación de la vía

paracelular por el CaSR a través de los micro-ARN y su modificación a través de inhibidores de la HDCA permite visualizar nuevos tratamientos futuros para las enfermedades hipercalcémicas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Furuse M, Sasaki H, Fujimoto K, Tsukita S. A single gene product claudin-1 or -2 reconstitutes tight junction strands and recruits occluding in fibroblasts. *J Cell Biol.* 1998;143:391-401.
2. Simon DB, Lu Y, Choate KA, Velazquez H, Al-Sabban E, Praga M, et al. Paracellin-1, a renal tight junction protein required for paracellular Mg²⁺ + resorption. *Science.* 1999;285:103-6.
3. Thorleifsson G, Holm H, Edvardsson V, Walters GB, Styrkarsdottir U, Gudbjartsson DF, et al. Sequence variants in the CLDN14 gene associate with kidney stones and bone mineral density. *Nat Genet.* 2009;41(8), 926-830.
4. Hou J, Rajagopal M, Yu ASL. Claudins and the kidney. *Annu Rev Physiol.* 2013;75:479-501.
5. Yu ASL. Claudins and the kidney. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26:11-9.
6. Friedman PA. Renal calcium metabolism. Chapter 65. En: Seldin and Giebisch's *The Kidney*, 5th Edition. Physiology & Pathophysiology. Alpern & Caplan & Moe; 2012.
7. Mensenkamp AR, Hoenderop JG, Bindels RJ. Recent advances in renal tubular calcium reabsorption. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2006;15:524-9.
8. Yu AS, Cheng MH, Angelow S, Günzel D, Kanzawa SA, Schneeberger EE, et al. Molecular basis for cation selectivity in claudin -2 paracellular pores: Identification of an electrostatic interaction site. *J Gen Physiol.* 2009;133(1): 11-27.
9. Kirk A, Campbell S, Bass P, Mason J, Collins J. Differential expression of claudin tight junction proteins in the human cortical nephron. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25:2107-19.
10. Muto S, Hata M, Taniguchi J, Tsuruoka S, Moriwaki K, Saitou M, et al. Claudin 2 deficient mice are defective in the leaky and cation-selective para cellular permeability properties of renal proximal tubules. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107:8011-6.
11. Hou J, Goodenough DA. Claudin-16 and claudin-19 function in the thick ascending limb. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2010;19:483-8.
12. Tang VW, Goodenough DA. Paracellular ion channel at the tight junction. *Biophys J.* 2003;84:1660-73.
13. Hou J, Paul DL, Goodenough DA. Paracellin-1 and the modulation of ion selectivity of tight junctions. *J Cell Sci.* 2005;118:5109-18.
14. Hou J, Renigunta A, Konrad M, Gomes AS, Schneeberger EE, Paul DL, et al. Claudin-16 and claudin-19 interact to form a cation selective tight junction complex. *J Clin Invest.* 2008;118:619-28.
15. Hou J, Renigunta A, Gomes AS, Hou M, Paul DL, Waldegger S, et al. Claudin-16 and claudin-19 interaction is required for their assembly into tight junctions for renal reabsorption of magnesium. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106, 125350-.
16. Konrad M, Schaller A, Seelow D, Pandey AV, Waldegger S, Lesslauer A, et al. Mutations in the tight-junction gene claudin 19 (CLDN19) are associated with renal magnesium

- wasting, renal failure, and severe ocular involvement. *Am J Hum Genet.* 2006;79(5):949-57.
17. Gong Y, Renigunta V, Himmerkus N, Zhang J, Renigunta A, Bleich M, et al. Caludin-14 regulates renal Ca⁺⁺ transport in response to CaSR signaling via a novel micro-RNA pathway. *2012;31(8):1999-2012.*
 18. Riccardi D, Brown EM. Physiology and pathophysiology of the calcium-sensing receptor in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010;298. F485-99.
 19. Loupy A, Ramakrishnan, Wootla B, Chambrey R, de la Faille R, Bourgeois S, et al. PTH independent regulation of blood calcium concentration by the calcium-sensing receptor. *J Clin Invest.* 2012;122(9):3555-67.
 20. Dimke H, Desai P, Borovac J, Lau A, Pan W, Todd RA. Activation of the Ca²⁺-sensing receptor increases renal claudin-14 expression and urinary Ca²⁺ excretion. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2013;304. F761-69.
 21. Toka HR, Al-Romaih K, Koshy JM, DiBartolo S 3rd, Kos CH, Quinn SJ, et al. Deficiency of the calcium-sensing receptor in the kidney causes parathyroid hormone-independent hypocalciuria. *J Am Soc Nephrol.* 2012;23(11): 1879-90.
 22. Gong Y, Himmerkus N, Plain A, Bleich M, Hou J. Epigenetic regulation of MicroRNAs controlling CLDN14 expression as mechanism for renal calcium handling. *J Am Soc Nephrol.* 2014;26. Jul 28. pii: ASN.2014020129. [Epub ahead of print].