

Claudin 16 a 19 a jejich úloha v minerální homeostáze

S. SKÁLOVÁ, Š. KUTÍLEK

*Dětská klinika FN, Hradec Králové
Center for Clinical and Basic Research (CCBR), Pardubice*

SOUHRN

S. Skálová, Š. Kutílek: **Claudin 16 a 19 a jejich úloha v minerální homeostáze**

Claudiny jsou transmembránové bílkoviny těsného spoje (tight junction proteins), které určují vlastnosti mezibuněčných spojů a kontroly selektivitu paracelulárního transportu. Claudiny jsou tudíž důležitými regulátory paracelulárního transportu minerálů a mohou zásadně ovlivnit minerální homeostázu organismu. Claudin 16 (CLDN 16) a claudin 19 (CLDN 19) regulují paracelulární transport kalcia a magnézia v Henleově kličce. Klinickým projevem defektu CLDN 16 je familiární hypomagnezémie s hyperkalciurií a nefrokalcinózou (FHHNC), která je autozomálně recesivně dědičná a postupně vede k renální insuficienci. Mutace CLDN 19 vedou k FHHNC a těžkým anomáliím očí. Tento přehled přináší základní údaje o CLDN 16 a CLDN 19 a o klinických projevech jejich mutací.

Klíčová slova: claudin 16; claudin 19, hyperkalciurie, nefrokalcinóza, hypermagneziurie, hypomagnezémie

SUMMARY

S. Skálová, Š. Kutílek: **Claudin-16 and claudin-19 and their roles in mineral homeostasis**

Claudins are transmembrane tight junction proteins. They determine the barrier properties of intercellular contact existing between the two neighbouring cells and control the selectivity of paracellular transport. Claudins can therefore significantly affect mineral homeostasis. Claudin-16 (CLDN16) and claudin-19 (CLDN19) regulate the paracellular transport of calcium and magnesium in the loop of Henle. Claudin-16 is defective in autosomal recessive familial hypomagnesaemia with hypercalciuria and nephrocalcinosis (FHHNC), resulting in renal insufficiency. Mutations in CLDN19 lead to FHHNC, renal failure and severe ocular abnormalities. This review provides basic information on CLDN16 and CLDN19 and on the clinical manifestations of CLDN16 and CLDN19 mutations.

Keywords: claudin-16; claudin-19, hypercalciuria, nephrocalcinosis, hypermagnesiuria, hypomagnesaemia

Osteologický bulletin 2008;13(4):172–174

Adresa: MUDr. Sylva Skálová, PhD. Dětská klinika FN a LF UK, Hradec Králové, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
e-mail: skalova.s@seznam.cz

Došlo do redakce: 1. 12. 2008

Přijato k tisku: 8. 12. 2008

Úvod

Claudiny jsou významnými regulátory paracelulárního transportu minerálů a mohou zásadně ovlivnit minerální homeostázu organismu. Tento přehled přináší základní údaje o claudinu 16 a claudinu 19, které rozhodujícím způsobem ovlivňují tubulární reabsorpci kalcia a magnézia, a o klinických projevech jejich mutací.

Renální vylučování kalcia a magnézia

Vyrovnaná bilance kalcia a magnézia je umožňována souhrou jejich střevní absorpce a renální exkrece. Denní příjem kalcia je zhruba 1 000 mg (25 mmol), v zažívacím traktu je absorbováno asi 40 % vápníku (250 mg; 5–6 mmol kalcia), v glomerulech je denně filtrováno 9 000 mg (225 mmol) vápníku a 98 % z tohoto množství je za fyziologických podmínek reabsorbováno v renálních tubulech. Kalcium je převážně (60–70 %) reabsorbováno v proximálním tubulu, zejména pasivně paracelulárně v závislosti na elektrochemickém gradientu. 20 % filtrovaného kalcia je reabsorbováno v tlustém segmentu vzestupného raménka Henleovy

kličky. Zde je vápník reabsorbován transcelulárně za účasti Na-K-2Cl kotransportu a kalcium sensing receptoru (CaSR) a rovněž paracelulárně. V distálním tubulu je aktivním transportem proti elektrochemickému gradientu reabsorbováno 8–10 % filtrovaného kalcia [1].

Doporučený příjem Mg pro děti je 10 mg/kg/den, pro dospělé 5 mg/kg/den. Průměrný denní příjem magnézia se tudíž pohybuje kolem 320 mg (13,3 mmol). 30–50 % perorálně podaného magnézia je absorbováno v zažívacím traktu. Vylučování magnézia je regulováno ledvinami v závislosti na jeho plazmatické koncentraci. Asi 70 % plasmatického magnézia přechází do glomerulárního filtrátu. V glomerulárním filtrátu je 30 % až 40 % ionizovaného hořčiku pasivně reabsorbováno v proximálním tubulu a 60 % až 65 % je reabsorbováno aktivním transportem ve vzestupném raménku Henleovy kličky [1,2].

Claudiny a jejich úloha

Claudiny jsou transmembránové bílkoviny těsného spoje (tight junction proteins), které určují vlastnosti mezibuněč-

ných spojů a kontrolují selektivitu paracelulárního transportu v endoteliálních a epiteliálních buňkách. Claudiny mohou uzavřít paracelulární prostor a tvoří paracelulární póry pro průnik iontů. U savců bylo dosud identifikováno 25 izoform claudinů, z nichž claudin 16 (CLDN 16, známý též jako paracellin-1 – PCLN 1) a claudin-19 (CLDN 19) regulují paracelulární transport kalcia a magnézia v renálních tubulech [3–15]. Paracelulární rezorbce magnézia a kalcia je umožněna vytvořením pórů CLDN 16 a CLDN 19, kterými se pohybují kationty po elektrochemickém gradientu [10–12]. Claudiny jsou exprimovány v mnoha tkáních, claudin 1 (CLDN 1) je kupříkladu exprimován ubikvitně, CLDN 2 v proximálním tubulu a tenkém segmentu sestupného raménka Henleovy kličky, zatímco CLDN 16 se nachází výhradně v tlustém segmentu vzestupného raménka Henleovy kličky a CLDN 19 v průběhu Henleovy kličky a rovněž v sítnici a v periferních neuronech [4,12,13]. Gen pro CLDN 16 byl lokalizován na chromozómu 3q27, gen pro CLDN 19 na chromozómu 1p34.2 [13,16]. CLDN 16 patří mezi proteiny závislé na fosforylaci cyklickým adenosinmonofosfátem (cAMP) a fosfokinázou A (PKA) [8]. CLDN 16 a CLDN 19 působí synergicky ve vzájemné interakci a tvoří těsný mezibuněčný spoj, který umožňuje selektivní prostup pro kationty, a tím též reabsorpci hořčíku a vápníku. Mutace CLDN 16 či CLDN 19 ruší tuto vzájemnou interakci a vedou k renálním ztrátám magnézia a kalcia [11,12].

Klinické projevy deficitu CLDN 16

Klinickým projevem mutace CLDN 16 je familiární hypomagnezémie s hyperkalciurií a nefrokalcinózou (Familial hypomagnesemia with hypercalciuria and nephrocalcinosis, FHHNC, OMIM 248250). Jedná se o geneticky podmíněné onemocnění s autozomálně recesivní dědičností, které se klinicky manifestuje nejčastěji v dětském věku [7,14–18]. Charakteristické jsou výrazné renální ztráty magnézia a kalcia, dochází k časnému a progresivnímu selhání ledvin v různém věku – od kojeneckého až po dospělost [16–18]. Hypomagnezémie je výrazná (0,4–0,6 mmol/l) s nepřiměřeně zvýšenou magnezurií (> 0,1 mmol Mg/kg denně). V důsledku vysokých renálních ztrát kalcia se rozvíjí hypokalcémie a sekundární hyperparatyreóza a poté nefrokalcinóza, která je obvykle bilaterální. U kojenců bývají význačné rachitické změny. Hypokalcémie se může manifestovat tetanií, paresteziemi, spontánními spazmy. Pacienti mají polyurii a polydipsii. V laboratorním nálezu dominuje hypomagnezémie, hypermagneziurie, normokalcémie až hypokalcémie, hyperkalciurie, hypostenurie [14–18]. V letech 2000–2001 bylo ve světovém písemnictví u celkem 35 pacientů s diagnózou FHHNC pocházejících z 27 rodin identifikováno 17 různých mutací genu pro CLDN 16 [7,16,17]. Průměrný věk v době manifestace onemocnění byl 3,5 roku (rozmezí 2 měsíce – 18 let), hlavními projevy byly infekce močových cest, polyurie, polydipsie, hematurie, u 12 pacientů se v průměrném věku 14,5 let (rozmezí 5,5–37,5 roku) rozvinula chronická renální insuficience [17]. V práci týkající se 15 mutací u 33 pacientů z 25 rodin byla nejčastěji (v 48 %) zjištěna substituce Leu151Phe, a to výlučně u nemocných ze střední a východní Evropy (Německo, Česká republika, Slovinsko, Bosna, Makedonie, Polsko) [17]. Tato mutace nebyla zastižena u rodin s FHHNC pocházejících

z Británie, Francie, Španělska, Itálie, Egypta, Saudské Arábie a Srí Lanky [5,17,17]. U 13 z 23 rodin byla zjištěna hyperkalciurie a/nebo urolitiáza u jinak asymptomatických rodinných příslušníků, což vedlo k hypotéze o úloze heterozygotních mutací CLDN 16 při etiopatogenezi hyperkalciurie a rozvoji urolitiázy [17]. FHHNC a mutace CLDN 16 byly dále zjištěny u dvou sourozenců tuniského původu z konsanguinního manželství [18], u dvou korejských sourozenců, jejichž rodiče byli heterozygoty [19], u 7-měsíčního makedonského kojence s pyelonfritidou [20], u 2-měsíčního tureckého kojence s renálním selháním a nesouvisejícími anomáliemi (podkovovitou ledvinou, dysmorfickými rysy v obličeji, koarktací aorty a defektem komorového septa) [21], u dvou sester ze Saudské Arábie s renálním selháním [22], u tří tureckých sourozenců s typickými projevy FHHNC [23]. Jednalo o homozygoty a u jejich heterozygotních příbuzných se vyskytovala hyperkalciurie bez dalších projevů FHHNC. Zajímavá je kazuistika dvou alžírských sourozenců z konsanguinního manželství, kdy se u obou dětí vyskytovala nefrokalcinóza a metabolická acidóza; obě děti byly homozygoty: jedno dítě pro mutaci CLDN 16 a jednalo se o FHHNC, jeho sourozenec pro ATP6V1B1 a trpěl tudíž distální renální tubulární acidózou [24]. FHHNC může být rovněž přítomna u heterozygotů, kdy je důsledkem přítomnosti dvou rozdílných mutací CLDN 16. Takové nálezy byly popsány u dvou britských sourozenců s chronickou renální insuficiencí a nutností transplantace ledvin v dětském věku [25], u japonského dítěte [26], u 20-letého německého pacienta s křečemi, hyperkalciurií a nefrokalcinózou [27]. Ve vzácných případech může mutace CLDN 16 vést pouze k hyperkalciurii a nefrokalcinóze bez významných ztrát hořčíku [28]. Odlišné mutace CLDN 16 se mohou projevit různou závažností klinických projevů FHHNC, včetně nástupu chronického selhání ledvinných funkcí [28,29]. V současné době bylo identifikováno přes 20 mutací CLDN 16 [29].

V léčbě FHHNC se zkoušelo podávání magnézia a thiazidových diuretik. Podávání thiazidů může mírně a krátkodobě snížit renální ztráty vápníku [17,20,30,31], ale u některých pacientů zůstává zcela bez efektu [17,32]. Suplementace magnezem není účinná a jedinou možnou léčbou je transplantace ledviny [17,20,22,25,30–32]. Do budoucna se uvažuje u léčebném užití inhibitorů endocytózy u pacientů s vybranými mutacemi CLDN 16 [33–35].

Klinické projevy deficitu CLDN 19

Mutace CLDN 19 vedou k FHHNC a těžkým anomáliím očí. Klinickými projevy jsou nefrolitiáza, recidivující infekce močových cest, snížení renálních funkcí až chronická renální insuficience, kolobom, nystagmus, myopie. Mutace CLDN 19 byly dosud zjištěny u dvou příslušníků jedné švýcarské rodiny, u dvou tureckých pacientů a u 8 osob španělského původu z 8 rodin. První klinické projevy se manifestovaly u 9 pacientů v kojeneckém věku, u 3 pacientů ve věku předškolním [36]. Prognóza a léčba jsou obdobné jako u pacientů s mutacemi CLDN 16.

Závěr

Claudin 16 a 19 představují významné regulátory minerální homeostázy. Jejich mutace jsou příčinou renálních

ztrát vápníku a hořčiku, nefrokalcinózy a renálního selhání. Vyšetření CLDN 16 a 19 je vhodné u pacientů s příznaky FHHNC.

Literatura

1. Bushinsky DA. Calcium, magnesium, and phosphorus: renal handling and urinary excretion. In: Favus MJ, ed: Primer on the metabolic bone disease and disorders of mineral metabolism. 5th ed. Washington, American Society for Bone and Mineral Research, 2003:97–105.
2. Rude RK. Magnesium metabolism and deficiency. *Endocrinol Metab Clin N Amer* 1993;22:377–395.
3. Van Itallie CM, Anderson JM. The molecular physiology of tight junction pores. *Physiology* 2004;19:331–338.
4. Krause G, Winkler L, Mueller SL et al. Structure and function of claudins. *Biochim Biophys Acta* 2008;1778:631–645.
5. Simon DB, Lu Y, Choate KA, Velazquez H et al. Paracellin-1, a renal tight junction protein required for paracellular Mg^{2+} resorption. *Science* 1999;285:103–106.
6. Weber S, Schlingmann KP, Peters M et al. Primary gene structure and expression of rodent paracellin-1. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:2664–2672.
7. Blanchard A, Jeunemaitre X, Coudol P et al. Paracellin-1 is critical for magnesium and calcium reabsorption in the human thick ascending limb of Henle. *Kidney Int* 2001;59:2206–2215.
8. Ikari A, Ito M, Okude C et al. Claudin-16 is directly phosphorylated by protein kinase A independently of a vasodilator-stimulated phosphoprotein-mediated pathway. *J Cell Physiol* 2008;214:221–229.
9. Himmerkus N, Shan Q, Goerke B et al. Salt- and acid/base metabolism in claudin-16 knockdown mice impact for the pathophysiology of FHHNC patients. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008; Sep 10 (Epub ahead of print)
10. Hou J, Paul DL, Goodenough DA. Paracellin-1 and the modulation of ion selectivity of tight junctions. *J Cell Sci* 2005;118:5109–5118.
11. Hou J, Renigunta A, Konrad M et al. Claudin-16 and claudin-19 interact and form a cation-selective tight junction complex. *J Clin Invest* 2008;118:619–628.
12. Günzel D, Yu AS. Function and regulation of claudins in the thick ascending loop of Henle. *Pflugers Arch*. 2008; Sep 16 (Epub ahead of print)
13. Angelow S, El-Husseini R, Kanzawa SA, Yu AS. Renal localization and function of the tight of the tight junction protein, claudin-19. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007;293:166–177.
14. Konrad M, Weber S. Recent advances in molecular genetics of hereditary magnesium-losing disorders. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:249–260.
15. Konrad M, Schlingmann KP, Gudermann T. Insights into the molecular nature of magnesium homeostasis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004;286:599–605.
16. Weber S, Hoffmann K, Jeck N et al. Familial hypomagnesaemia with hypercalcaemia and nephrocalcinosis maps to chromosome 3q27 and is associated with mutations in the PCLN-1 gene. *Eur J Hum Genet* 2000;8:414–422.
17. Weber S, Schneider L, Peters M. Novel paracellin-1 mutations in 25 families with familial hypomagnesaemia with hypercalcaemia and nephrocalcinosis. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:1872–1881.
18. Kuwertz-Bröking E, Fründ S, Bulla M, Kleta R, August C, Kisters K. Familial hypomagnesaemia-hypercalcaemia in 2 siblings. *Clin Nephrol* 2001;56:155–161.
19. Kang JH, Choi HJ, Cho HY et al. Familial hypomagnesaemia with hypercalcaemia and nephrocalcinosis associated with CLDN16 mutation. *Pediatr Nephrol* 2005;20:1490–1493.
20. Tasic V, Dervisov D, Koceva S, Weber S, Konrad M. Hypomagnesaemia with hypercalcaemia and nephrocalcinosis: case report and a family study. *Pediatr Nephrol* 2005;20:1003–1006.
21. Türkmen M, Kasap B, Soylu A et al. Paracellin-1 gene mutation with multiple congenital abnormalities. *Pediatr Nephrol* 2006;21:1776–1778.
22. Al-Elq AH. Familial hypomagnesaemia with hypercalcaemia and nephrocalcinosis in 2 sisters. *Saudi Med J* 2008;29:447–451.
23. Peru H, Akin F, Elmas S, Elmaci AM, Konrad M. Familial hypomagnesaemia with hypercalcaemia and nephrocalcinosis: report of three Turkish siblings. *Pediatr Nephrol* 2008;23:1009–1012.
24. Vargas-Poussou R, Cochat P, Le Pottier N et al. Report of a family with two different hereditary diseases leading to early nephrocalcinosis. *Pediatr Nephrol* 2008;23:149–153.
25. Hampson G, Konrad MA, Scoble J. Familial hypomagnesaemia with hypercalcaemia and nephrocalcinosis (FHHNC): compound heterozygous mutation in the claudin 16 (CLDN16) gene. *BMC Nephrol* 2008;9:12 (Epub ahead of print).
26. Tajima T, Nakae J, Fujieda K. Two heterozygous mutations of CLDN16 in a Japanese patient with FHHNC. *Pediatr Nephrol* 2003;18:1280–1282.
27. Staiger K, Staiger H, Haas C et al. Hypomagnesaemia and nephrocalcinosis in a patient with two heterozygous mutations in the CLDN16 gene. *J Nephrol* 2007;20:107–110.
28. Müller D, Kausalya PJ, Claverie-Martin F et al. A novel claudin 16 mutation associated with childhood hypercalcaemia abolishes binding to ZO-1 and results in lysosomal mistargeting. *Am J Hum Genet* 2003;73:1293–12301.
29. Konrad M, Hou J, Weber S et al. CLDN16 genotype predicts renal decline in familial hypomagnesaemia with hypercalcaemia and nephrocalcinosis. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:171–181.
30. Wolf MT, Dötsch J, Konrad M et al. Follow-up of five patients with FHHNC due to mutations in the Paracellin-1 gene. *Pediatr Nephrol* 2002;17:602–608.
31. Zimmermann B, Plank C, Konrad M et al. Hydrochlorothiazide in CLDN16 mutation. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:2127–2132.
32. Kutluturk F, Temel B, Uslu B et al. An unusual patient with hypercalcaemia, recurrent nephrolithiasis, hypomagnesaemia and G227R mutation of Paracellin-1. An unusual patient with hypercalcaemia and hypomagnesaemia unresponsive to thiazide diuretics. *Horm Res* 2006;66:175–181.
33. Müller D, Kausalya PJ, Bockenhauer D et al. Unusual clinical presentation and possible rescue of a novel claudin-16 mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3076–3079.
34. Müller D, Kausalya PJ, Meij IC, Hunziker W. Familial hypomagnesaemia with hypercalcaemia and nephrocalcinosis: blocking endocytosis restores surface expression of a novel Claudin-16 mutant that lacks the entire C-terminal cytosolic tail. *Hum Mol Genet* 2006;15:1049–1058.
35. Kausalya PJ, Amasheh S, Günzel D et al. Disease-associated mutations affect intracellular traffic and paracellular Mg^{2+} transport function of claudin 16. *J Clin Invest* 2006;116:878–891.
36. Konrad M, Schaller A, Seelow D 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;79:949–957.