

Роль почек в поддержании кальциевого и магниевого гомеостаза и при его нарушениях (Часть I)

Я.Ф. Зверев¹, В.М. Брюханов¹, А.Я. Рыкунова²

¹ Кафедра фармакологии ГБОУ ВПО "Алтайский государственный медицинский университет" Минздрава РФ, пр. Ленина, 40, Барнаул, 656038, Россия

² Отделение хронического диализа КГБУЗ "Краевая клиническая больница" Минздрава РФ, ул. Ляпидевского, 1, Барнаул, 656024, Россия

Role of kidney in maintaining calcium and magnesium homeostasis and its disorders

(Part I)

Ja.F. Zverev¹, V.M. Bryukhanov¹, A.Ya. Rykunova²

¹ Chair of pharmacology, Altai state medical University, 40 Lenin avenue, Barnaul, 656038, Russian Federation

² Department of chronic dialysis Altai regional clinical Hospital, 1 Lyapidevski street, Barnaul, 656024, Russian Federation

Ключевые слова: гомеостаз кальция и магния, почечный транспорт, клаудины, каналы семейства TRP, кальций-чувствительный рецептор

Резюме

Обзор посвящен проблеме кальциевого и магниевого гомеостаза и его регуляции в организме человека. С учетом последних достижений молекулярной биологии рассматривается процесс пассивного и активного переноса Ca^{2+} и Mg^{2+} в различных органах, сложные процессы регуляции их кишечной абсорбции, костной минерализации, передвижения в различных отделах почки. Обсуждается роль клаудинов в обеспечении транспорта двухвалентных катионов в толстом восходящем отделе петли Генле. Рассматриваются особенности топологии клаудинов, обуславливающие функционирование плотных межклеточных контактов в канальцах почек и их значение для процесса парацеллюлярной реабсорбции Ca^{2+} и Mg^{2+} . Описывается роль каналов семейства TRP в реабсорбции Ca^{2+} и Mg^{2+} в дистальных извитых канальцах. Подчеркивается особая роль каналов TRPV5 и TRPV6 в активном трансцеллюлярном переносе этих катионов, что имеет важное значение в регуляции кальциевого и магниевого гомеостаза. Приводятся современные взгляды на топологию и функциональное значение кальций-чувствительных рецепторов, локализованных в парацитовидных железах и нефроне, в регуляции внеклеточного уровня двухвалентных катионов. Отмечается появление агонистов и антагонистов кальций-чувствительных рецепторов и их потенциальная роль в коррекции нарушений кальциевого обмена. Обсуждаются вопросы регуляции почечного транспорта Ca^{2+} и Mg^{2+} .

Abstract

The review is devoted to the problem of calcium and magnesium homeostasis and its regulation in the human body. Taking into account the latest achievements of molecular biology, the process of passive and active transport of Ca^{2+} and Mg^{2+} in the intestine, bones and renal tubules is considered. The role of claudine in the transport of divalent cations in the thick ascending limb of the Henle loop is discussed. The peculiarities of the topology of claudins are considered, which determine the functioning of dense

Адрес для переписки: Яков Федорович Зверев
Тел.: 8 (3852) 241868 e-mail: zver@agmu.ru

Corresponding author: Jakov F. Zverev
e-mail: zver@agmu.ru

intercellular contacts in the renal tubules and their significance for the process of paracellular reabsorption of Ca^{2+} and Mg^{2+} . The role of the TRP family channels in the reabsorption of Ca^{2+} and Mg^{2+} in the distal nephron is described. The special role of TRPV5 and TRPV6 channels in the active transcellular transfer of these cations, which is of great importance in the regulation of calcium and magnesium homeostasis, is emphasized. Modern views on the role of calcium-sensitive receptors in the regulation of the extracellular level of divalent cations are given. Issues of regulation of renal transport of Ca^{2+} and Mg^{2+} are discussed.

Key words: calcium and magnesium homeostasis, renal transport, claudine, TRP family channels, calcium-sensitive receptor

Трудно переоценить роль кальция и магния в обеспечении фундаментальных процессов, протекающих в организме. В последние годы, благодаря в первую очередь достижениям в области молекулярной биологии, многие проблемы, касающиеся функционального значения этих двухвалентных катионов в норме и в условиях патологии, были прояснены, хотя остается целый ряд нерешенных вопросов. Исходя из актуальности отмеченной проблемы, а также недостаточности ее системного освещения в отечественной литературе, предпринята попытка рассмотреть метаболизм кальция и магния с учетом роли почек в его обеспечении, а также патофизиологические механизмы нарушений этого процесса и возможности его коррекции.

Кальциевый гомеостаз

Кальций – один из наиболее распространенных химических элементов организма. Его общее содержание у взрослого человека составляет примерно 1000-1200 г. Более 99% кальция присутствует в костях в виде кальций-фосфатных комплексов (преимущественно гидроксипатит). Здесь он обеспечивает прочность скелета, а также формирует динамический запас для поддержания внутриклеточного и внеклеточного пулов. В плазме крови содержание кальция находится в пределах 8,8-10,4 мг/дл (2,2-2,6 ммоль/л). На долю свободных ионов Ca^{2+} приходится примерно 51%, связано с белками (альбуминами и глобулинами) около 40%, в виде ионных комплексов (кальция фосфат, кальция карбонат, кальция оксалат) – в среднем 9% [1-3].

Функциональное значение кальция трудно переоценить. Он обеспечивает протекание таких фундаментальных процессов как нейрональная возбудимость, мышечное сокращение, формирование костной ткани, внутриклеточная трансдукция, экзоцитоз, активация ферментных систем. Поэтому поддержание кальциевого гомеостаза должно обеспечиваться с помощью довольно жестких регуляторных механизмов. Это достигается четким взаимодействием паращитовидных и щитовидной желез с процессами, протекающими в костной ткани, кишечнике и почках. Благодаря такому взаимодействию удается поддерживать внеклеточное содержание кальция в пределах довольно узкого диапазона. Когда же вследствие различных причин происходят сдвиги в отмеченном балансе, возникают гиперкальциемия или

гипокальциемия, лежащие в основе целого ряда патологических состояний [4]. По современным представлениям интегративная система, поддерживающая нормальный уровень внеклеточного кальция, включает три ключевых компонента:

- 1) клетки, ткани и органы, транспортирующие Ca^{2+} во внеклеточную жидкость и из нее: тонкий кишечник, почка, костная ткань (на определенных стадиях жизненного цикла – плацента и молочная железа);
- 2) гормоны, регулирующие эти потоки: паратиреоидный гормон (ПТГ), кальцитонин, 1,25-дигидроксивитамин D_3 [$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, кальцитриол] и соответствующие рецепторы этих гормонов;
- 3) кальциевые сенсоры (главным образом кальций-чувствительные рецепторы, CaSR), контролирующие продукцию и секрецию вышеназванных гормонов, а также направление и активность потоков Ca^{2+} [3, 5].

Плазменный уровень кальция, как известно, регулируется с помощью быстрой отрицательной обратной связи, вовлекающей концентрацию ионизированного Ca^{2+} и секрецию паращитовидными железами (ПЩЖ) паратиреоидного гормона. При снижении уровня плазменного Ca^{2+} уменьшается или прекращается стимуляция CaSR на мембранах клеток ПЩЖ. Это обуславливает секрецию ПТГ, который восстанавливает плазменную концентрацию кальция, активируя соответствующие рецепторы (PTHrR) в почке, что сопровождается усилением канальцевой реабсорбции катиона, и в костях, обеспечивая его костную резорбцию. Кроме того, ПТГ стимулирует секрецию почечными клетками кальцитриола, который, в свою очередь, активирует рецепторы витамина D (VDR), увеличивая абсорбцию кальция в кишечнике и регулируя костную минерализацию [6, 7]. Установлено также, что в условиях снижения плазменного содержания кальция происходит инактивация CaSR и в почке, что также способствует усилению канальцевой реабсорбции Ca^{2+} и, таким образом, потенцирует эффект ПТГ. Такой интегративный гормональный ответ, замыкая обратную-связевую петлю, обеспечивает быстрое восстановление концентрации кальция в плазме крови. Соответственно, рост ионизированного кальция в плазме обуславливает обратную последовательность ответа данной регуляторной гормональной системы, обеспечивая в норме колебания концентрации Ca^{2+} в пределах диапазона, не превышающего 10% [6-8].

Кишечная абсорбция кальция

Для поддержания нормального кальциевого гомеостаза важное значение имеет поступление этого катиона из кишечника. У взрослого человека около 30% кальция, попавшего с пищей, всасывается в тонком кишечнике. При этом кишечная абсорбция складывается из активного транспорта, контролируемого кальцитриолом, роль которого особенно важна в условиях низкого потребления кальция, и пассивной диффузии, которая доминирует при его высоком потреблении [9]. Обычно кальцитриол-зависимая абсорбция обеспечивает поступление большей части кальция, в то время как на долю пассивной диффузии приходится от 8 до 23% [10]. Пассивное всасывание Ca^{2+} происходит в основном в подвздошной и тощей кишках путем парацеллюлярного транспорта. Активный же трансцеллюлярный перенос Ca^{2+} осуществляется главным образом в двенадцатиперстной кишке. Предполагаемым каналом, обеспечивающим этот транспорт, является белок TRPV6, благодаря которому Ca^{2+} проникает через апикальную мембрану энтероцитов. Более подробно топология и функционирование TRP-каналов будет рассмотрено при описании почечного транспорта Ca^{2+} . Здесь же лишь отметим, что у нокаутных мышей, лишенных гена, кодирующего белок канала TRPV6, нарушается кишечная абсорбция кальция [11]. В то же время, такие мыши в условиях низкокальциевой диеты продемонстрировали повышенную кишечную абсорбцию Ca^{2+} . Это указывает на наличие дополнительно иного (иных) пока неизвестного механизма активной кишечной абсорбции Ca^{2+} [12]. Возможно, этот механизм связан с функционированием другого белка из семейства TRP, TRPV5, роль которого в процессе кишечной абсорбции не до конца понятна. TRPV5 локализован с TRPV6 в энтероцитах двенадцатиперстной кишки. С одной стороны, нокаутные мыши, лишенные канала TRPV5, сохраняли нормальный плазменный уровень Ca^{2+} даже в условиях почечного кальциевого истощения. С другой стороны, у этих животных было зафиксировано существенное повышение плазменной концентрации кальцитриола. Не исключено, что компенсаторная кишечная гиперабсорбция, обеспечиваемая кальцитриолом, маскирует дефицит всасывания кальция у TRPV5-дефицитных мышей [13, 14]. И все же, ведущую роль канала TRPV6 отрицать нельзя, поскольку у тех же нокаутных мышей увеличение дуоденальной абсорбции Ca^{2+} в ответ на применение низкокальциевой диеты было менее выраженным, чем у нормальных животных [12].

После проникновения через апикальную мембрану посредством TRPV6 Ca^{2+} переносится к базолатеральной мембране энтероцитов двенадцатиперстной кишки мышей благодаря высокоаффинному связыванию с транспортным белком кальбиндином- $\text{D}_{9\text{k}}$, после чего выбрасывается в кровь

с помощью АТФ-зависимого базолатерального насоса PMCA1b и $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменника NCX [8, 9, 15]. Отметим, что сходная кинетика характерна для реабсорбции Ca^{2+} в дистальном сегменте нефрона.

Костное кальциевое ремоделирование

Процесс ремоделирования костной ткани происходит постоянно с помощью координированных клеточных механизмов, адаптируя костную ткань к изменяющимся условиям окружающей среды. Утраченные жизнеспособность фрагменты костной ткани удаляются с помощью резорбции, заменяясь вновь образованными. Предположительно, высвобождение кальция из кости в кровотоки, равно как и противоположный процесс, осуществляется с помощью активных транспортных механизмов, превращающих кость в своеобразную буферную систему, контролирующую не только состояние костной ткани, но и уровень плазменного кальция [16]. Существенную роль в регуляции костного ремоделирования играет витамин D. Сегодня не вызывает сомнений его способность в основном усиливать минерализацию костной ткани как путем усиления кишечной абсорбции кальция и фосфора, так и благодаря прямому стимулирующему воздействию через VDR рецепторы на клеточные элементы костной ткани. По-видимому, основной мишенью для активной формы витамина D_3 в костной ткани являются остеообласты, активация которых с помощью геномного и негеномного механизмов обеспечивает усиление процесса костной минерализации. Как известно, содержание кальция в плазме крови является в значительной мере пусковым механизмом, определяющим преобладание какого-либо из отмеченных выше процессов [6]. Какова точная кинетика обмена Ca^{2+} между костью и внеклеточной жидкостью во многом остается загадкой. По-видимому, определенную роль в этом активном процессе играют ионные каналы семейства TRP. Так, канал TRPV5, идентифицированный в клеточном домене краевой зоны остеокластов у резорбционной поверхности, вероятно, облегчает удаление костного матрикса [17]. По данным приведенных авторов, нокаутные мыши, лишенные TRPV5, демонстрируют нарушенный выход Ca^{2+} из костей. Кроме того, экспрессия другого представителя этого семейства канала TRPV4 выявлена как в остеообластах, так и в остеокластах [18]. При этом у мышей с таргетной делецией гена *Trpv4* развивался остеопетроз. Данный дефект был обусловлен не подавлением функции остеообластов, поскольку процесс формирования кости у этих мышей оставался не нарушенным, а остеокластов, так как выявлялось уменьшение поверхностной зоны этих клеток, равно как и их количества. Высказано предположение, согласно которому канал TRPV4 воздействует на дифференцировку остеокластов, посредством этого влияя на резорбцию кости [19]. А процесс дифференцировки

остеокластов, в свою очередь, обеспечивается активностью транскрипционного ядерного фактора NFATc1, которая поддерживается достаточно высоким уровнем внутриклеточного Ca^{2+} . Так что вход Ca^{2+} через базолатеральную мембрану остеокластов посредством TRPV4, воздействуя на активность фактора NFATc1, по-видимому, контролирует процесс резорбции кости [18, 19].

Почечное движение кальция

Почечный транспорт кальция регулируется двумя основными механизмами: фильтрацией в клубочках и реабсорбцией по всей длине почечного канальца от проксимального отдела до собирательных трубок. Причем кинетика последнего процесса, как и его регуляция, весьма сложны и не до конца понятны. Согласно современным представлениям, реабсорбция Ca^{2+} в нефроне выглядит следующим образом.

Проксимальные канальцы (ПК)

В почечных клубочках фильтруется свободно диффундирующий ионизированный кальций (Ca^{2+}) и содержащие его ионные комплексы. Как уже отмечалось, на долю этих фракций приходится около 60% общего плазменного кальция. Оставшаяся часть, будучи связанной с белками, удерживается в плазме крови. Из профильтрованного в клубочках Ca^{2+} лишь 1-2% экскретируются с мочой, а 98-99% подвергаются реабсорбции вдоль почечного канальца. С помощью микропункционных экспериментов выяснено, что в ПК реабсорбируется 65-70% профильтрованного в клубочке Ca^{2+} , из которых 55-60% приходится на извитой отдел ПК, а 10% – на прямой [20-22]. В этом отделе нефрона реабсорбция Ca^{2+} происходит пропорционально обратному всасыванию Na^+ и воды и, по-видимому, является пассивной, обеспечивая перенос до 80% от попавшего сюда катиона [3]. Благодаря облигатной реабсорбции Na^+ и воды в этом отделе нефрона повышается внутриканальцевая концентрация Ca^{2+} , обуславливая рост соотношения канальцевая жидкость/фильтруемая плазма для этого катиона вдоль проксимального канальца до 1,2 [20, 23]. Создаваемый благодаря этому электрохимический градиент и обеспечивает пассивную реабсорбцию Ca^{2+} , скорее всего, с помощью парацеллюлярного шунта [20, 21]. Данное предположение подтверждается тем, что объемная экспансия, вероятно, за счет снижения проксимальной реабсорбции Na^+ и воды уменьшает величину электрохимического градиента и снижает здесь канальцевую реабсорбцию Ca^{2+} . В то же время, водная депривация, повышая реабсорбционные возможности проксимального канальца приводит к увеличению обратного всасывания этого катиона [4, 24]. Не исключено, что пассивный транспорт Ca^{2+} в проксимальном канальце осуществляется с помощью

клаудина-2, идентифицированного здесь протенина плотных контактов, возможно, обеспечивающего образование парацеллюлярной поры [25]. По крайней мере, нокаутные мыши, лишённые клаудина-2, характеризовались повышенной экскрецией кальция [26]. Активный трансцеллюлярный транспорт Ca^{2+} в этом сегменте нефрона, на долю которого приходится около 15% от его общей проксимальной реабсорбции, по-видимому, регулируется ПТГ и кальцитонином [27].

Толстый восходящий отдел петли Генле (ТЛВПГ)

Важным местом почечной реабсорбции Ca^{2+} является ТЛВПГ главным образом корковых нефронов, где осуществляется обратное всасывание 20-25% от профильтрованного Ca^{2+} . По современным представлениям здесь происходит парацеллюлярное перемещение Ca^{2+} , движущей силой которого является положительная со стороны просвета канальца трансэпителиальная разность электрических потенциалов [4, 28]. В начальных отделах ТЛВПГ, где еще присутствует примерно одинаковая концентрация $NaCl$ с люминальной и базолатеральной сторон клетки, создается трансэпителиальный потенциал на уровне +5-10 мВ (в среднем +8 мВ). Он образуется благодаря апиальному входу ионов Na^+ , K^+ и Cl^- посредством котранспортера $NaKCC2$ с последующим рециклингом K^+ через апиальную мембрану с помощью канала ROMK. В создание потенциала также вносит вклад базолатеральная активность Na^+/K^+ -АТФазы и канала $ClC-Kb$ /барттин, направленная на выброс Na^+ и Cl^- соответственно [29]. По ходу ТЛВПГ с помощью трансэпителиальной реабсорбции ионов происходит разведение мочи с существенным падением интралюминальной концентрации натрия. В этих условиях в конечных отделах ТЛВПГ генерируется большой градиент $NaCl$. Поскольку парацеллюлярная проницаемость в этом участке нефрона является катион-селективной, возникает значительный обратный парацеллюлярный ток Na^+ из интерстиция в просвет канальца, который обуславливает дальнейшее увеличение положительного электрического потенциала вплоть до +30 мВ [30].

Сегодня выяснено, что ключевую роль в обеспечении транспорта Ca^{2+} в ТЛВПГ играют плотные (замыкающие) межклеточные контакты. Эти контакты представлены гетеромерными протениновыми комплексами, образующими в эпителии парацеллюлярный барьер. Плотный контакт между эпителиальными клетками, с одной стороны, функционирует как молекулярная преграда, поддерживающая клеточную полярность путем разделения компонентов апиальной и базальной мембран. С другой стороны, плотный контакт обеспечивает селективную проницаемость для ионов и воды. Еще в 1972 году

T.Machen с коллегами высказали предположение, что некоторые плотные контакты проницаемы для ионов и малых молекул, таких как вода и маннитол [31]. Исследования биохимического состава плотных контактов позволили выяснить, что он включает несколько групп протеинов, важнейшими из которых являются клаудины [32]. Mikiю Furuse с коллегами из лаборатории Shoichiro Tsukita удалось выделить из фракции плотных контактов печени цыплят, очистить и идентифицировать первый протеин нового семейства клаудинов [33]. Установлено, что клаудины представляют собой большое мультигенное семейство. Только у млекопитающих идентифицировано 27 генов, кодирующих различные изоформы клаудинов с молекулярной массой от 20 до 28 kDa [34-36]. Причем каждая из них проявляет отдельный тканеспецифический паттерн экспрессии [37]. На рисунке 1 представлена принципиальная топология клаудинов. Из рисунка видно, что они содержат 4 трансмембранных домена (ТМД), два из которых соединены короткой цитоплазматической петлей (EL₁), состоящей примерно из 50 аминокислотных остатков, более короткую вторую внеклеточную петлю (EL₂), состоящую из 16-33 остатков, а также короткий N-терминальный конец (≈ 7 остатков) и более длинный C-терминальный конец, значительно варьирующий по длине (от 21 до 63 остатков) у различных изоформ клаудинов [25, 339].

Экспрессия многих клаудинов выявлена вдоль почечного канальца, образуя сложную мозаичную картину. Установлено, что к барьерным относятся изоформы семи клаудинов [40-45]. При этом различные

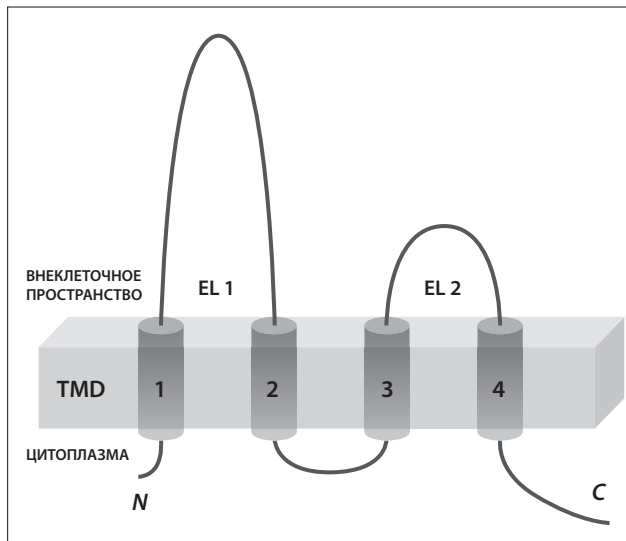


Рис. 1. Схематическое изображение клаудина (модификация S.Angelow et al., 2008)

EL₁ и EL₂ – внеклеточные петли. Здесь и на других рисунках ТМД – трансмембранные домены.

Fig. 1. Schematic representation of Claudine (modification of S.Angelow et al., 2008)

EL₁ and EL₂ – extracellular loops. Here and in other figures ТМД – transmembrane domains.

клаудины выявлены в клетках почечных канальцев крупного рогатого скота, кроликов, мышей, крыс, человека, из которых пять экспрессированы в клетках ТЛВПГ [25, 32, 37, 46-51]. Попутно заметим, что роль клаудинов не ограничена лишь функционированием канальцев почек. Они обеспечивают барьерную функцию в эпителии желудочно-кишечного тракта, сетчатки, внутреннего уха и других органов [32].

Эксперименты с использованием клеточных культур четко показали, что ряд клаудинов реализуют свою барьерную значимость, повышая трансэпителиальную резистентность [41, 45]. Так, нокаутные мыши, лишённые клаудинов-1 и -5, продемонстрировали повышенную парацеллюлярную проницаемость кожи и гематоэнцефалического барьера, а у мышей, нокаутных по клаудину-2, выявлялась сниженная проницаемость эпителия проксимальных канальцев почки [52]. Приведенные данные подтверждают, что клаудины регулируют парацеллюлярную проницаемость плотных контактов. При этом данные, полученные с помощью направленного мутагенеза, показывают, что клаудины образуют как барьер, так и парацеллюлярную пору, и что это определяется первой внеклеточной петлей (EL₁). Исследователи из отделения клеточной биологии Йельского университета (США) поменяли внеклеточные петли у клаудина-2 ("порообразующий клаудин") и клаудина-4 ("барьерный клаудин") и продемонстрировали, что конструкция, содержащая EL₁ клаудина-2 и EL₂ клаудина-2, продолжала функционировать как пора. В то же время, химера, включавшая EL₁ клаудина-4 и EL₂ клаудина-2, сохранила барьерные свойства [53]. В этой же лаборатории выяснилось, что та же первая внеклеточная петля определяет и селективность в отношении малых ионов [54]. В целом, полученные данные поддерживают модель, согласно которой первая внеклеточная петля клаудинов EL₁ как бы образует "выстилку" парацеллюлярной поры и определяет степень ее селективности для проникающих ионов. По всей вероятности, клаудиновая пора представляет собой узкий заполненный жидкостью заряд- и размер-селективный проход, образуемый первой внеклеточной петлей и петлями соседнего клаудина. Ионы пассивно транспортируются внутри парацеллюлярного пространства, управляемые химическим или электрическим градиентом. Важно отметить, что для формирования нормальных плотных контактов клаудины, взаимодействуя друг с другом, образуют димерные или более сложные олигомерные комплексы. Причем это взаимодействие строго специфично и возникает лишь между конкретными изоформами клаудинов [28, 55].

Наибольшее клиническое значение в обеспечении транспорта ионов Ca²⁺ (и Mg²⁺) в толстом восходящем отделе петли Генле имеют клаудин-16 (парацеллин-1) и клаудин-19. Кроме клаудинов-16 и -19 в клетках почечных канальцев идентифицированы и другие представители этого семейства.

Несмотря на недостаточное количество фактических данных, имеются также основания полагать, что роль клаудина-14 в почках является скорее регуляторной, обеспечивая нормальное функционирование ионных каналов, образуемых клаудинами-16 и -19 [25, 56-58].

В нижней трети проксимальных почечных канальцев и в начальном тонком нисходящем отделе петли Генле определена экспрессия клаудина-2, функционирующего как селективная парацеллюлярная пора для переноса Na^+ и Cl^- в соотношении 8:1, а также, возможно, K^+ и Ca^{2+} [47, 52, 59, 60].

Таким образом, сегодня можно считать твердо установленным, что реабсорбция Ca^{2+} в толстом восходящем отделе петли Генле осуществляется с помощью пассивного парацеллюлярного транспорта, который обеспечивается клаудинами-16 и -19, образующими селективную пору для двухвалентных положительно заряженных ионов.

Дистальный сегмент нефрона (ДСН)

Этот сегмент объединяет дистальные извитые канальцы (ДИК), связующие канальцы (СК) и начальные отделы собирательных трубок (СТ). Здесь условия для транспорта ионов существенно изменяются. Плотные контакты в эпителии дистального сегмента становятся непроницаемыми для двухвалентных катионов. Кроме того, исчезает электродвижущая сила, обеспечивавшая парацеллюлярное движение ионов, поскольку трансэпителиальный потенциал становится электроотрицательным и растет от -5 мВ в начале ДИК до -40 мВ к СТ [61]. К тому же, благодаря значительной парацеллюлярной реабсорбции, происходившей выше по течению в ТЛВПГ, концентрация Ca^{2+} к началу дистальных извитых канальцев падает, что ведет к существенному снижению электрохимического градиента. И все же, в этом отделе происходит реабсорбция Ca^{2+} . По данным микропункционных исследований ее величина у крыс колеблется в пределах 5-10% от профильтровавшегося катиона [3, 62]. Приведенные выше условия неопровержимо доказывают, что реабсорбция Ca^{2+} в дистальном сегменте нефрона является активным процессом, направленным против электрохимического градиента [4, 8].

Отдельно отметим, что, несмотря на сравнительно небольшой вклад дистального сегмента в общий объем реабсорбции Ca^{2+} , ее роль весьма существенна. Подвергаясь ряду гормональных воздействий, дистальная реабсорбция Ca^{2+} весьма чутко и быстро реагирует на изменения плазменной концентрации катиона и представляет собой своеобразный механизм "тонкой настройки", регулирующий кальциевый гомеостаз в целом [4, 63].

После длительных поисков относительно недавно были раскрыты основные механизмы реабсорбции Ca^{2+} в этом сегменте нефрона. Выяснилось, что активный апикальный вход Ca^{2+} обеспечивается протеинами семейства TRP (transient receptor potential). Семейство каналов TRP у млекопитающих включает 6 подсемейств, характеризующихся определенным структурным сходством. Как видно из рисунка 2, каналы, собранные в тетрамеры, содержат 6 доменов, внутриклеточные N- и C-терминалы и предсказанный образующий единичную пору центральный регион, составленный из гидрофобной нити между трансмембранными доменами-5 и -6 [19, 64]. Для нас особый интерес представляют каналы TRPV5 и TRPV6, поскольку именно эти каналы, как оказалось, являются высоко селективными в отношении ионов Ca^{2+} [64-67]. Впервые TRPV5 (ранее – ECaC1) был клонирован из почки кролика, TRPV6 (ранее – CaT₁/ECaC₂) – из двенадцатиперстной кишки крысы [68, 69]. Эти гомологичные протеины включают около 730 аминокислот. Их гены, содержащие 15 экзонов, картируются рядом друг с другом на хромосоме 7q35 [70-72]. Следует отметить, что большой вклад в изучение топологии и функционального значения этих новых кальциевых каналов внесли исследователи из Нидерландов под руководством профессора Joost Hoenderop. Вначале была изучена почечная экспрессия TRPV5, затем – TRPV6 [73]. Возникло предположение о том, что Ca^{2+} -селективность обоих каналов определяется четырьмя заряженными аспарагиновыми остатками, участвующими в образовании предполагаемой поры. Нейтрализация этих отрицательно заряженных остатков влияет на степень Ca^{2+} -селективности. Рассчитанный диаметр поры составил 5,4 Å, а точечная мутация одного из аспарагиновых остатков изменяла предполагаемый размер

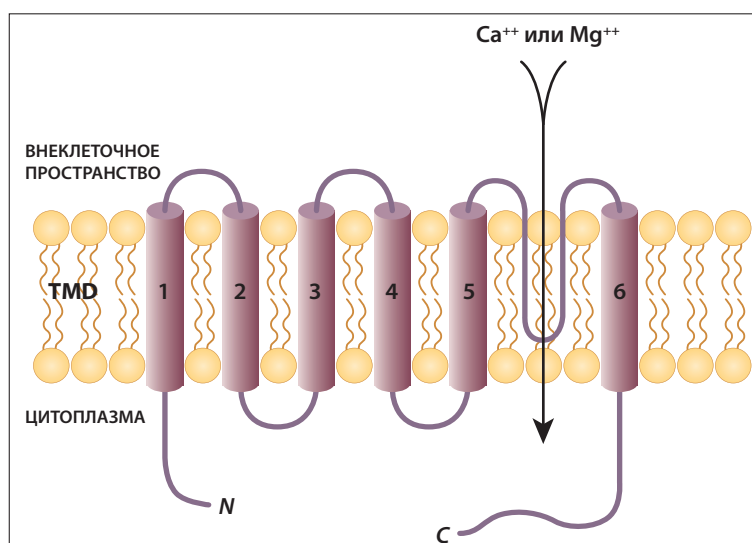


Рис. 2. Схематическое изображение канала TRPV (модификация H.Dimke et al., 2011)

Fig. 2. Schematic representation of the TRPV channel (modification of H.Dimke et al., 2011)

поры [74]. Следует отметить, что хотя поры, образуемые рассматриваемыми каналами, проницаемы и для ионов Mg^{2+} , аффинитет по отношению к Ca^{2+} в 10-1000 раз выше, что позволяет говорить об их Ca^{2+} -селективности [63].

Сегодня можно считать установленным, что указанные каналы локализованы в апикальном домене дистальных извитых канальцев, связующих канальцев и начальных отделов собирательных трубок. Очень важным является то, что в клетках тех же отделов дистального нефрона выявлена экспрессия Ca^{2+} -связывающих (транспортирующих) протеинов калбиндина- D_{28k} и/или калбиндина- D_{9k} . И здесь же вдоль базолатеральной мембраны определена высокая экспрессия протеинов, осуществляющих выброс Ca^{2+} через эту мембрану с помощью Na^+/Ca^{2+} (NCX1) обменника и Ca^{2+} -АТФазы (PMCA1b) [19, 63, 73, 75]. Обобщая все полученные сведения, можно составить представление, согласно которому активная реабсорбция Ca^{2+} в дистальном нефроне представляет собой многоступенчатый процесс, который начинается с активного апикального входа Ca^{2+} посредством каналов TRPV5 и TRPV6. Затем происходит взаимодействие с Ca^{2+} -транспортирующими протеинами, обеспечивающими его цитозольную диффузию, и, наконец, активный выход через базолатеральную мембрану посредством Na^+/Ca^{2+} обменника и Ca^{2+} -АТФазы [63]. По-видимому, калбиндин- D_{28k} играет роль не только протеина, транспортирующего Ca^{2+} , но и кальциевым сенсором, выступая в качестве своеобразного динамического буфера, защищающего клетки от внезапного повышения содержания цитозольного кальция. При низкой концентрации катиона калбиндин- D_{28k} транслоцируется к люминальной мембране и вступает в связь с протеином TRPV5 вблизи от места открывания канала. После попадания Ca^{2+} в клетку калбиндин- D_{28k} связывается с ним, диссоциирует от TRPV5 и облегчает трафик Ca^{2+} к базолатеральной мембране клетки канальца [8, 76, 77]. Весь этот процесс находится под постоянным гормональным контролем со стороны паратиреоидного гормона, кальцитриола, кальцитонина, эстрогенных и андрогенных гормонов, а также пищевого кальция [63, 78-88].

Эксперименты с использованием нокаутных животных подтвердили важную роль каналов TRPV5 и TRPV6 в обеспечении трансцеллюлярной реабсорбции Ca^{2+} в дистальном нефроне. Мыши, лишённые TRPV5, продемонстрировали почти 6-кратное увеличение почечной экскреции Ca^{2+} . А детальное микропункционное исследование показало, что кальциевое опустошение у этих мышей берет начало с дистального извитого канальца [14].

Конечно, не все вопросы, касающиеся рассматриваемой проблемы, полностью прояснены. Не до конца понятно, например, насколько идентична физиологическая роль описываемых каналов TRPV5 и TRPV6. Так, экспрессия TRPV6 выявлена

в главных и вставочных клетках собирательных трубок, которые практически не принимают участия в реабсорбции Ca^{2+} . Это указывает на какие-то дополнительные функции TRPV6, которые еще предстоит выяснить. Об этом же говорит и довольно высокая экспрессия мРНК этого же канала в предстательной железе, желудке, мозге, легком, двенадцатиперстной, слепой и толстой кишках, скелетной мышце и поджелудочной железе [73].

Роль кальций-чувствительных рецепторов (CaSR) в регуляции уровня внеклеточного кальция

Важнейшую роль в регулировании содержания ионизированного кальция в плазме крови, как известно, играет ПТГ, циркулирующий уровень которого определяется активностью внеклеточных кальций-чувствительных рецепторов (CaSR). CaSR идентифицировали в 1993 году Edward Brown с коллегами в лаборатории Steven Hebert при использовании стратегии экспрессионного клонирования [89]. Эти рецепторы позволяют органам и тканям, обеспечивающим гомеостаз внеклеточного кальция (Ca^{2+}_o), осуществлять строгий мониторинг уровня этого иона в крови. Экспрессия CaSR четко определена на мембранах клеток паращитовидных желез, секретирующих РТН, С-клеток щитовидной железы, секретирующих кальцитонин, а также в кишечнике, костях и почках [90].

Именно CaSR является важнейшим звеном известного механизма отрицательной обратной связи между содержанием внеклеточного Ca^{2+} и активностью ПТГ. Посредством CaSR обеспечивается вовлечение паращитовидных желез и других клеток, экспрессирующих эти рецепторы, в гомеостаз кальция в почках и костях для улавливания изменений уровня Ca^{2+} . При этом активация CaSR, когда содержание катиона в крови превосходит верхнюю границу нормы, приводит к ингибированию функции паращитовидных желез и к снижению выброса паратиреоидного гормона [91]. В отличие от описанного механизма, в С-клетках щитовидной железы кальций-чувствительный рецептор действует иначе, обеспечивая усиление секреции кальцитонина в условиях роста Ca^{2+}_o , что обуславливает снижение плазменной концентрации Ca^{2+} [92].

CaSR принадлежит к С-семейству сцепленных с G-белками рецепторов. К этому семейству относятся также метаботропные глутаматные, ГАМК_B, вкусовые, феромоновые, а также аминокислотные рецепторы и рецепторы, чувствительные к двухвалентным катионам – GPRC6A [93]. Ген *CaSR* картирован на хромосоме 3q13.3-21 [94, 95].

CaSR – это протеин с молекулярной массой около 120 kDa, состоящий из 1078 аминокислот. Как видно из рисунка 3, CaSR человека содержит 7 трансмембранных доменов (250 аминокислотных остатков),

большую внеклеточную петлю (EL) из 612 аминокислот и С-терминальный внутриклеточный конец, состоящий из 216 аминокислотных остатков [90, 96]. Молекулярное моделирование, основанное на известных структурах EL некоторых метаболитических глутаматных рецепторов, позволяет предположить, что EL CaSR функционирует по принципу "мухоловки" (venus flytrap). Между двумя частями петли находится щель, которая содержит место связывания Ca^{2+} [97]. Эта щель остается открытой в отсутствие агониста и закрывается при связывании Ca^{2+} , посредством этого производя конформационные изменения в трансмембранных, а затем и внутриклеточных доменах рецептора, инициируя сигнальную трансдукцию [5]. Стимуляция CaSR обуславливает активацию G-протеинов: $G_{q/11}$, G_i и $G_{12/13}$, что, в свою очередь, приводит к активации фосфатидилинозитольного каскада с высвобождением Ca^{2+} из внутриклеточных хранилищ, ингибированию аденилатциклазы и активации Rho-киназы соответственно [98]. Кроме того, рецептор регулирует целый ряд других внутриклеточных сигнальных путей.

Интересно, что внеклеточный Ca^{2+} не является единственным агонистом CaSR. Активация рецептора наблюдается и при воздействии других двухвалентных (Mg^{2+} , Sr^{2+}) и трехвалентных (La^{3+} , Gd^{3+}) катионов, а также молекул с высоким положительным зарядом, таких как полиамины (спермин), аминогликозидные антибиотики (неомицин), протаин и полиаргинин [5, 89, 90]. Это позволило высказать предположение, согласно которому CaSR реагирует

скорее не на концентрацию внеклеточного Ca^{2+} , а на поликатионный состав окружающей рецептор среды. Отмеченные поликатионные агонисты относятся к так называемым агонистам 1 типа. Их стимулирующее воздействие не требует присутствия внеклеточного Ca^{2+} . Существуют также агонисты CaSR 2 типа, действие которых требует присутствия миллимолярных концентраций Ca^{2+} [91]. К таким агонистам относятся различные L-аминокислоты и аллостерические активаторы CaSR, так называемые кальцимитетики [91, 99]. Существует мнение, согласно которому аминокислоты связываются с EL, тогда как кальцимитетики – с трансмембранным доменом CaSR [100]. Появились и первые кальцилитики, аллостерически блокирующие CaSR [101]. По-видимому, они конкурируют с кальцимитетиками за место связывания на трансмембранном домене рецептора, стабилизируя его неактивную конформацию [5]. Кальцилитики представляют интерес как потенциальные средства для лечения остеопороза [101].

В паращитовидных железах высокая экспрессия кальций-чувствительных рецепторов контролирует синтез паратиреоидного гормона, его секрецию, а также пролиферацию железистых клеток [102]. Функция CaSR заключается в ингибировании этих процессов, что и обеспечивает снижение плазменного содержания внеклеточного Ca^{2+} . В экспериментах *in vitro* клеточная культура, содержащая клетки паращитовидных желез быка, на протяжении 24 часов драматически ослабляла реакцию на введение внеклеточного Ca^{2+} . Причем этот эффект сочетался с существенным снижением экспрессии мРНК протеина CaSR [89, 103]. Кроме того, CaSR способен подавлять функцию паращитовидных желез не прямо, усиливая активность рецепторов витамина D, что ведет к потенцированию угнетающего воздействия $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в отношении пролиферации клеток паращитовидных желез и экспрессии гена, ответственного за синтез паратиреоидного гормона [104].

После идентификации кальций-чувствительных рецепторов в клетках паращитовидных желез, учитывая важную роль почек в поддержании кальциевого гомеостаза, было предположено наличие этих рецепторов в нефроне, что вскоре и было подтверждено [105]. Исследования с использованием гибридизации *in situ*, полимеразной цепной реакции изолированных сегментов нефрона и нозерн блоттинга показали, что мРНК CaSR присутствует практически во всех отделах почки и даже в тех регионах, которые не принимают участия в метаболизме кальция [106].

Вскоре эти данные подтвердились иммуногистохимически благодаря применению анти-CaSR поликлональных

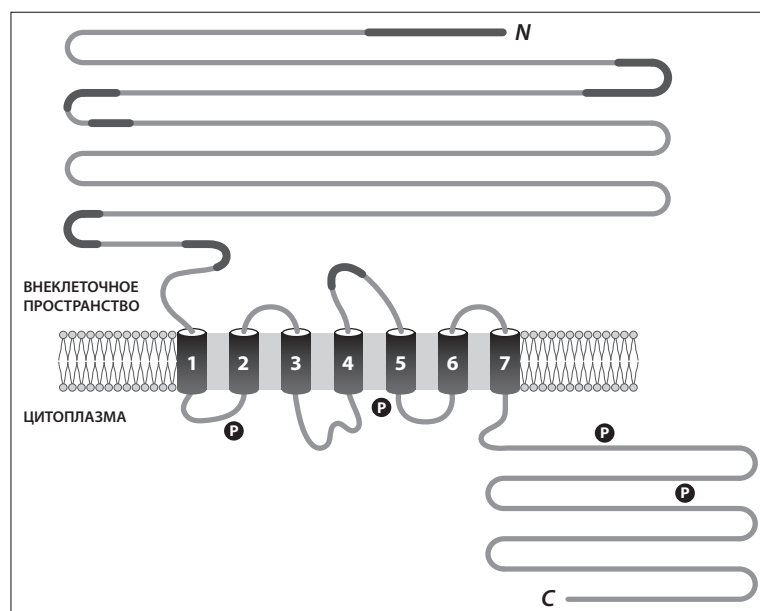


Рис. 3. Схематическое изображение предполагаемого протеина кальций-чувствительного рецептора (CaSR) (модификация J.Tfelt-Hansen, E.Brown, 2005)

P – место протеинкиназной активности (PKC)

Fig. 3. Schematic representation of the putative calcium-sensitive receptor protein (CaSR) (modification of J.Tfelt-Hansen, E.Brown, 2005)

P – the site of protein kinase activity (PKC)

антител [105]. При этом было установлено, что если в клетках проксимального канальца и собирательных трубок внутренней медуллы эти рецепторы локализованы на апикальной, то в толстом восходящем отделе петли Генле, плотном пятне и дистальных извитых канальцах (ДИК) – на базолатеральной поверхности клеток нефрона. Правда, в ДИК человека встречается прерывистая экспрессия CaSR и на апикальной поверхности клеток [107].

Удалось также выяснить, что CaSR в почке не только обеспечивает гомеостаз двухвалентных катионов, но и прямо воздействует на другие параметры почечной функции. Эксперименты с использованием изолированных сегментов нефрона, изолированных клеточных линий, а также нокаутных животных позволили доказать участие кальций-чувствительных рецепторов в следующих процессах [2, 5, 108, 109]:

1. Гомеостаз кальция и неорганического фосфата
2. Транспорт одно- и двухвалентных катионов
3. Ацидификация мочи
4. Концентрирование мочи
5. Высвобождение ренина

Возвращаясь к участию CaSR в метаболизме кальция, отметим, что в проксимальных канальцах почек эти рецепторы осуществляют контроль за функцией витамина D, по-видимому, через воздействие на синтез его активной формы кальцитриола, который, как известно, происходит здесь при участии 1α -гидроксилазы [5, 110]. В то же время, кальцитриол и ПТГ модулируют экспрессию гена и протеина CaSR в этом отделе нефрона [111, 112].

Существенное значение имеют кальций-чувствительные рецепторы в толстом восходящем отделе петли Генле, осуществляя здесь контроль за реабсорбцией Ca^{2+} . В условиях гиперкальциемии базолатерально локализованные CaSR, реагируя на плазменный рост концентрации Ca^{2+} , ингибируют каналы ROMK, обеспечивающие процесс рециклинга K^+ [113]. В результате уменьшения содержания K^+ в клетке снижается эффективность $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ котранспортера в ТЛВПГ, что реализуется в уменьшении положительного трансэпителиального потенциала. А это, в свою очередь, как уже обсуждалось выше, ведет к ослаблению парацеллюлярного движения двухвалентных катионов, в том числе и Ca^{2+} из просвета канальца. Кроме того, повышение внутриклеточного содержания Ca^{2+} вследствие роста его концентрации у базолатеральной поверхности приводит к активации фосфолипазы A2, в результате чего в клетках ТЛВПГ усиливается образование арахидоновой кислоты и одного из ее дериватов 20-НЕТЕ. Последний, ингибируя активность Na^+ , K^+-ATP азы, а также каналы NKCC и ROMK, за счет этого ослабляет реабсорбцию двухвалентных катионов в ТЛВПГ [37].

Функциональная значимость кальций-чувствительных рецепторов в дистальных извитых канальцах

не до конца выяснена и понятна. Из имеющихся единичных сведений следует, что CaSR повышает активность одного из двух (а возможно, и обоих) механизмов базолатерального выхода Ca^{2+} в ДИК, который, как уже отмечалось, осуществляется посредством Ca^{2+} -ATФазы и $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменника [85]. Кроме того, на клеточных линиях, стимуляция кальций-чувствительных рецепторов приводила к повышению активности колокализованного с CaSR TRPV5, одного из основных Ca^{2+} -каналов апикальной поверхности клеток ДИК [105]. Таким образом, можно с большой долей вероятности предположить, что в дистальных извитых канальцах активация CaSR приводит к стимуляции апикального входа и/или базолатерального выхода Ca^{2+} [5]. Какую это имеет биологическую целесообразность, особенно в контексте подавления парацеллюлярной реабсорбции Ca^{2+} в ТЛВПГ, определенно сказать пока трудно. Возможно, предполагаемый механизм CaSR в ДИК направлен на компенсаторное предотвращение излишних потерь Ca^{2+} при ингибировании его парацеллюлярного маршрута в ТЛВПГ. Это один из вопросов, который нуждается в дальнейшем исследовании.

К таким же вопросам относится и пока недостаточно понятная роль CaSR в собирательных трубках нефрона. Показано, что главные клетки собирательных трубок экспрессируют CaSR на своей апикальной поверхности, где эти рецепторы так же осуществляют мониторинг экскреции Ca^{2+} с мочой [5, 114]. Иммуногистохимические эксперименты показали, что здесь CaSR колокализованы с регулируемым вазопрессивным водными каналами AQP2. Известно, что высокая гиперкальциемия угнетает медируемое антидиуретическим гормоном повышение осмотической водной проницаемости, осуществляемое посредством этого аквапорина [114]. Не исключено поэтому, что это угнетение осуществляется благодаря активации функции CaSR [115]. В то же время, такой эффект CaSR, направленный на снижение гиперкальциемии, приводит к нарушению процесса концентрирования мочи и гиперкальциурии с вероятностью развития нефрокальциноза и нефролитиаза. Заметим, что именно такие нарушения характерны для пациентов с активирующими мутациями CaSR [116].

Поскольку в кальциевом гомеостазе участвуют многие органы и ткани, не удивительно, что экспрессия кальций-чувствительных рецепторов обнаружена не только в парацитовидных железах и почках. Так, CaSR были идентифицированы в С-клетках щитовидной железы, кишечнике, костях, молочной железе, плаценте [5, 117]. В щитовидной железе CaSR модулирует синтез и высвобождение гипокальциемического гормона кальцитонина [118]. Выяснено, что в желудке CaSR активирует секрецию гастрина и повышает кислотность желудочного сока, в тонком кишечнике усиливает высвобождение холецистокинина, который стимулирует секрецию панкреатических энзимов и сокращение мускулатуры желчного

пузыря. В толстом кишечнике CaSR усиливает дифференцировку колоноцитов и ингибирует секрецию жидкости и электролитов [119]. Весьма противоречивы сведения относительно функциональной роли кальций-чувствительных рецепторов в костной ткани [120]. Имеются данные, согласно которым экспрессия CaSR выявлена как в остеобластах, так и в остеокластах, причем не только в зрелых клетках, но и в прекурсорах остеокластов, равно как и в преостеобластах [121, 122]. Приведенные факты указывают, скорее, на регуляторную роль этих рецепторов в процессе костного ремоделирования. И все же, по-видимому, основной функцией CaSR является повышение клеточной дифференцировки и усиление образования костной ткани, поскольку в экспериментах *in vitro* и *in vivo* было показано, что в отношении протеобластов кальций-чувствительные рецепторы проявляют себя как митогенные факторы [123, 124]. Не исключено, что благодаря такому механизму высокий уровень внеклеточного Ca^{2+} стимулирует образование кости и, возможно, ингибирует резорбцию костной ткани.

Следует отметить, что кальций-чувствительные рецепторы обнаружены также в тканях, не вовлеченных непосредственно в кальциевый гомеостаз. Показано, например, участие CaSR в обороте Ca^{2+} у плода путем регулирования трансплацентарного движения иона [125]. Кроме того, относительно недавно установлено, что в молочной железе CaSR стимулирует транспорт Ca^{2+} в молоко [126]. Не исключено, что в некоторых тканях высокий внеклеточный Ca^{2+} через взаимодействие с CaSR регулирует ряд жизненно-важных функций, таких как усиленная клеточная пролиферация, выявленная в культуре фибробластов [127], индукция клеточной дифференцировки в кератиноцитах и эпителии ободочной кишки человека [128, 129], предотвращение апоптоза в клетках карциномы предстательной железы и образования катаракты в эпителиальных клетках хрусталика [130, 131]. На клеточной линии гипофиза мышей показано, что CaSR вовлечен в высвобождение адренокортикотропного альфа-меланоцит стимулирующего гормонов [132]. Выявлена также способность CaSR стимулировать высвобождение инсулина из клеточной культуры инсулиномы, желчи – из гепатоцитов и гастрин – из антральных клеток желудка [133-135]. Так что не исключено, что через взаимодействие с CaSR реализуется известная стимулирующая роль Ca^{2+} в процессе экзоцитоза.

Приведенные данные говорят о том, что кальций-чувствительные рецепторы играют важную роль в регулировании уровня внеклеточного кальция. В то же время, эти рецепторы выполняют более многостороннюю функцию, чем полагали ранее, будучи вовлеченными в разнообразные клеточные процессы. Вполне вероятно, что CaSR могут стать мишенью для новых фармакологических препаратов, способных воздействовать на многие процессы, протекающие в организме [136].

Магниевого гомеостаз

В организме человека содержится 20-25 г магния. Являясь четвертым среди всех положительно заряженных ионов после калия, натрия и кальция и вторым после калия внутриклеточным катионом, магний по своей общебиологической роли сопоставим с кальцием. Около 99% магния организма содержится внутри клеток (85% – в костях и 14% – в мягких тканях и печени) и лишь 1% – во внеклеточном пространстве. У здоровых людей концентрация магния в плазме крови поддерживается в довольно узком диапазоне от 1,8 до 2,3 мг/дл (0,7-1,1 ммоль/л). При этом до 70% общего плазменного магния находится в ионизированном состоянии и свободно фильтруется в почечных клубочках, а около 30% связано с белками плазмы [3, 137, 138].

Будучи универсальным регулятором биохимических и физиологических процессов, магний принимает важное участие во многих клеточных функциях, включая биосинтез белка и ДНК, метаболизм глюкозы и жиров, окислительное фосфорилирование, мышечная возбудимость, активность многих ферментов [139]. Баланс магния в организме поддерживается сходным с кальцием образом и реализуется в виде координированного взаимодействия между ПЩЖ, костями, кишечником и почками. Однако точные механизмы, регулирующие плазменную концентрацию магния, выяснены в меньшей степени.

Нормальная суточная норма потребления магния с пищевыми продуктами составляет 300-400 мг. Главное место абсорбции пищевого магния – тонкий кишечник, хотя небольшая часть всасывается и в толстом. Кишечная абсорбция магния осуществляется посредством двух механизмов: насыщаемого активного трансцеллюлярного транспорта и ненасыщаемого пассивного парацеллюлярного переноса, зависящего от электрохимического градиента [140, 141]. При этом вклад каждого из путей абсорбции в значительной степени обусловлен количеством пищевого магния, поступающего в кишечник. При низкой концентрации в просвете всасывание магния происходит в основном с помощью активного трансцеллюлярного насыщаемого механизма. С ростом концентрации преобладающим становится парацеллюлярный пассивный транспорт [142]. Пассивный перенос осуществляется с помощью парацеллюлярного маршрута, активная трансцеллюлярная абсорбция происходит в толстой кишке и, по-видимому, обеспечивается предполагаемым магниевым каналом TRPM6 и, возможно, TRPM7, благодаря которым Mg^{2+} проникает в клетки через апикальную мембрану энтероцита. Установлено, что мутации TRPM6 приводят к развитию гипомagneмии, которая наблюдается также и у гетерозиготных TRPM7-дефицитных мышей [143-145]. Выброс Mg^{2+} через базолатеральную мембрану осуществляется с помощью предполагаемого Na^+/Mg^{2+} обменника [19, 142].

Относительно обмена магния между костями и внеклеточной жидкостью известно крайне мало, хотя важная роль этого процесса не подвергается сомнению [19]. Об этом свидетельствуют данные об ускоренном обороте кости, снижении костного объема и прочности костей в условиях гипомagneмии у животных [146, 147]. Показано, что Mg^{2+} индуцирует пролиферацию остеобластов. Поэтому дефицит Mg^{2+} приводит к ослаблению формирования кости, а Mg^{2+} -дефицитные крысы имеют уменьшенное количество остеобластов и сниженную костную массу [148, 149]. Так что, представляется вполне резонным предположение о том, что Mg^{2+} хранится и обменивается в костях сходным с Ca^{2+} образом, а магниевое истощение может влиять на формирование и резорбцию костей. Однако регуляторные механизмы, обеспечивающие эти процессы, остаются не установленными.

Почечное движение магния

Основная регуляция магниевого баланса в организме осуществляется почками, где профильтрованный катион подвергается реабсорбции. В результате, экскретируется с мочой лишь 3-5% Mg^{2+} , прошедшего через почечный клубочек [4, 150]. В условиях низкого пищевого потребления, повышенных кишечных потерь или перераспределения Mg^{2+} из внеклеточного во внутриклеточное пространство почка может обеспечить снижение экскреции иона вплоть до 0,5% от преодолевшего клубочковый фильтр [151]. Важно отметить, что количественно реабсорбция Mg^{2+} в различных сегментах нефрона существенно различается.

Проксимальные каналцы (ПК)

Известно, что в ПК реабсорбируется лишь от 10 до 25% от профильтрованного Mg^{2+} , как показали еще ранние микропункционные эксперименты [142, 151, 152]. Интересно, что проксимальный каналец почки новорожденного способен реабсорбировать значительно большее количество – вплоть до 70% от поступившего сюда Mg^{2+} . Очевидно, развивающемуся организму требуется большее количество магния, что и обуславливает более значительную его проксимальную реабсорбцию [153]. Затем в процессе развития проницаемость проксимального каналца изменяется. Считается, что проксимальный транспорт Mg^{2+} является парацеллюлярным. Разница концентраций, создающая электрохимический градиент, по-видимому, образуется Na^+ -управляемым транспортом воды, что обеспечивает существенный рост внутриканальцевой концентрации Mg^{2+} в этом отделе нефрона. Это приводит к росту соотношения канальцевая жидкость/фильтрат до 1,9, чего вполне достаточно для создания движущей силы реабсорбции Mg^{2+} [154]. Приведенные данные указывают

на то, что адекватная реабсорбция воды является необходимым условием для транспорта Mg^{2+} , начинающегося в конечном отделе извитой части проксимального каналца. С другой стороны, относительно небольшой процент реабсорбции Mg^{2+} (в сравнении с Ca^{2+}) в этом отделе нефрона и необходимость создания довольно высокого концентрационного градиента указывает на не слишком высокую проницаемость плотных межклеточных стыков для Mg^{2+} в проксимальном каналце.

Толстый восходящий отдел петли Генле (ТЛВПГ)

Основное место реабсорбции Mg^{2+} – ТЛВПГ, где подвергается обратному всасыванию от 50 до 75% профильтрованного катиона [155]. При этом в ТЛВПГ практически весь магний реабсорбируется в корковом сегменте, в то время как медуллярный сегмент не проницаем для Mg^{2+} [156]. Выяснилось также, что, как и в случае с кальцием, движение Mg^{2+} здесь является пассивным и осуществляется по парацеллюлярному маршруту. Движущая сила такого движения создается положительной со стороны просвета каналца трансэпителиальной разностью электрических потенциалов. Подробнее механизмы инициирования просвет-положительного трансэпителиального потенциала рассмотрены ранее. Здесь лишь отметим, что любое воздействие, изменяющее этот потенциал или проницаемость парацеллюлярного пути, должно изменять и реабсорбцию Mg^{2+} в ТЛВПГ. И действительно, использование диуретика фуросемида, ингибирующего активность $Na^+-K^+-2Cl^-$ котранспортера, одного из индукторов трансэпителиального потенциала, почти полностью подавляет электрический градиент в ТЛВПГ. Параллельно с этим транспорт Mg^{2+} радикально ингибировался [157-158].

Основную роль в формировании межклеточных плотных контактов, обеспечивающих селективную парацеллюлярную проницаемость для ионов Mg^{2+} (как и для Ca^{2+}), играют клаудин-16 и клаудин-19, мутации которых приводят к магниевому опустошению организма [159]. В экспериментах, проведенных на клеточных культурах, показано, что экспрессия клаудина-16 модулируется концентрацией Mg^{2+} , присутствующего во внеклеточной среде [160]. Объединяясь в комплексы на уровне плотных контактов, клаудины-16 и -19 образуют селективные поры для двухвалентных катионов. При этом наличие клаудина-16, по-видимому, обеспечивает функционирование канала как такового, а клаудин-19 необходим для рекрутирования клаудина-16 в образуемый комплекс на уровне плотного контакта и для переключения селективности канала с анионов на катионы [55]. В последнее время появились сведения о возможной роли клаудина-10 в этом сегменте нефрона. По-видимому, этот протеин участвует в механизме функционирования плотных контактов, снижая

парацеллюлярную проницаемость для Na^+ и повышенная пассивный перенос Ca^{2+} и Mg^{2+} . По крайней мере, в экспериментах на изолированных перфузируемых ТЛВПГ дефицитных по клаудину-10 мышцей наблюдалось увеличение проницаемости для Mg^{2+} , а в крови этих животных была зафиксирована гипермагниемия [161].

Дистальный сегмент нефрона (ДСН)

В дистальном извитом канальце (ДИК) реабсорбируется от 5% до 10% профильтрованного Mg^{2+} , что составляет 70-80% от его количества, поступившего в ДИК после прохождения петли Генле. Таким образом, дистальные извитые канальцы играют важную роль в установлении конечной экскреции Mg^{2+} с мочой, тем более что в собирательных трубках сколько-нибудь значимого обратного всасывания этого катиона не происходит.

Напомним, что ДИК характеризуется отрицательным со стороны просвета трансэпителиальным потенциалом (от -5 мВ в начале до -40 мВ в конце сегмента), высокой внутриклеточной резистентностью и непроницаемыми для Mg^{2+} межклеточными контактами [162, 163]. Поэтому реабсорбция Mg^{2+} здесь является трансцеллюлярной и активной [164, 165]. Это подтверждается данными, согласно которым концентрация Mg^{2+} в просвете ДИК находится в диапазоне между 0,2 и 0,7 ммоль/л, в то время как внутри клеток канальца она составляет 0,2-1,0 ммоль/л [165-166]. Возникло предположение о том, что активная реабсорбция Mg^{2+} происходит главным образом в начальных отделах ДИК [162]. И именно здесь на апикальной мембране эпителия позднее с применением гистохимических методик была выявлена экспрессия канала TRPM6. Этот канал, будучи селективно проницаемым для Mg^{2+} , по всей видимости, обеспечивает апикальный вход этого катиона [167].

Канал TRPM6 представляет собой протеин, состоящий из 2000 аминокислотных остатков, который кодируется большим геном, содержащим 39 экзонов [168, 169]. TRPM6 в значительной степени гомологичен протеину TRPM7, формирующему Ca^{2+} - и Mg^{2+} -проницаемый канал во многих клетках. Интересной отличительной особенностью TRPM6 и TRPM7 является наличие длинного внутриклеточного карбокси-терминального домена, обладающего α -протеинкиназной активностью [170]. Такая комбинация канала с энзимной активностью является уникальной среди известных ионных каналов и предполагает наличие необычных функциональных свойств.

Предполагается, что указанные протеины формируют специфические каналы, обеспечивающие проницаемость для Mg^{2+} . Но если TRPM7, скорее всего, вовлечен во внутриклеточный гомеостаз катиона, TRPM6 экспрессирован в основном в абсорбирующем эпителии [171, 172]. С помощью гибридизации

in situ и иммуногистохимического окрашивания экспрессия TRPM6 обнаружена вдоль мембраны щеточной каемки эпителиальных клеток кишечника и вдоль апикальной мембраны клеток дистального извитого канальца почек [167, 168]. Трансфекция TRPM6 в клетки HEK293, перфузируемые раствором Mg^{2+} или Ca^{2+} , позволила зафиксировать направленные внутрь клетки токи двухвалентных катионов [63]. В то же время, микропункционные исследования показали значительно более высокий аффинитет TRPM6 по отношению к Mg^{2+} в сравнении с Ca^{2+} [167]. Это позволяет считать TRPM6 уникальным ионным каналом, предназначенным для активного входа Mg^{2+} через апикальную мембрану клеток дистальных извитых канальцев почек. Важно отметить, что экспрессия TRPM6 в ДИК локализована с транспортными протеинами парвальбумином и калбиндином- $\text{D}_{28\text{k}}$. Не исключено, что именно с ними связывается Mg^{2+} , проникший в клетку через апикальную мембрану, для дальнейшего трафика к базолатеральной поверхности клетки.

Отметим также, что недавно был идентифицирован эпидермальный фактор роста (EGF), как, возможно, первый магнестропный гормон, регулирующий активность TRPM6. По крайней мере, показано, что ингибирование активности этого фактора усиливает гипомагниемия, возникающую как результат почечного магниевого истощения [4, 173, 174]. Еще одним фактором, способствующим реабсорбции Mg^{2+} посредством канала TRPM6, по-видимому, является недавно идентифицированный апикальный потенциал-зависимый калиевый канал Kv1.1. Этот канал, обеспечивающий секрецию ионов K^+ в просвет ДИК, увеличивает положительный интралюминальный электрический потенциал, что облегчает реабсорбцию Mg^{2+} через TRPM6 [3, 175]. Установлено, что мутация канала Kv1.1, приводящая к потере его функциональности в ДИК, обусловила развитие аутосомно-доминантной гипомагниемии со всеми сопутствующими клиническими проявлениями [176].

Дальнейший маршрут Mg^{2+} после проникновения через апикальную мембрану клеток ДИК, включающий внутриклеточные белковые переносчики и механизмы базолатерального выброса, до последнего времени оставался неизвестным с позиций доказательной науки. На протяжении десятилетий приходилось опираться на ряд косвенных свидетельств, указывающих, что этот процесс обеспечивается Na^+ -зависимым и Na^+ -независимым магниевыми обменниками [177].

Еще в 1984 году были получены первые данные о наличии транспортного механизма, позволяющего выбрасывать Mg^{2+} из клеток млекопитающих [178]. Вскоре те же исследователи установили, что этот процесс осуществляется Na^+ -зависимым амилорид-чувствительным путем [179]. Впоследствии функционирование такого механизма было подтверждено и другими авторами на эритроцитах цыплят

и млекопитающих [180-183]. Как оказалось, выброс Mg^{2+} из клетки, осуществляемый этим механизмом, требует присутствия во внеклеточной среде физиологических концентрация Na^+ [184,185]. Так что сегодня сформировалось устойчивое мнение, что этот Na^+ -зависимый механизм выхода Mg^{2+} является Na^+/Mg^{2+} обменником. При этом были получены веские основания полагать, что этот механизм специфически зависит от активности цАМФ. По крайней мере, факторы, стимулирующие внутриклеточное накопление цАМФ, включая β -адреномиметики, глюкагон, простагландин E_2 , аналоги цАМФ, приводили к активации Na^+ -зависимого выброса Mg^{2+} [184-190].

В то же время, эксперименты, проведенные на фоне отсутствия Na^+ во внеклеточной среде или в присутствии препаратов, блокирующих транспорт Na^+ , показали, что и в этих условиях фиксируется выброс Mg^{2+} из клетки. Механизм и специфичность этого альтернативного Na^+ -независимого выхода Mg^{2+} точно пока не установлены. Имеются лишь единичные факты. Показано, например, что для функционирования этого процесса необходимо присутствие как катионов Ca^{2+} и Mg^{2+} , так и анионов HCO_3^- , Cl^- или холина [191, 192]. Поэтому до конца не ясно, имеем ли мы дело с наличием нескольких транспортных механизмов или с одним транспортером, который в зависимости от экспериментальных условий может функционировать как антипортер в отношении катионов или симпортер для катионов и анионов [177].

И все же, в последние годы намечился прорыв в решении и этой проблемы. В фундаментальной работе, в которой приняло участие значительное число исследователей из ряда европейских стран, с использованием современных методов мутационного анализа, позиционного клонирования, иммуногистохимии и электрофизиологических экспериментов у представителей двух семей с наследственной необъяснимой доминантной гипомагниемией удалось идентифицировать новый ген, мутации которого и обусловили развитие заболевания [193]. Этот ген *Spm2*, кодирует образование соответствующего протеина *CNNM2* (циклина M_2), принадлежащего к семейству из четырех гомологичных протеинов. Установлено, что он экспрессирован в ТЛВПГ и ДИК и участвует в активном транспорте Mg^{2+} [138, 194]. Но самое важное – протеин локализован на базолатеральной мембране и, весьма вероятно, участвует в процессе экстружии Mg^{2+} через эту мембрану в интерстиций. Разумеется, открытие нового участника почечного транспорта Mg^{2+} высветило целый ряд новых вопросов. Во-первых, пока не ясна в целом биологическая значимость протеина *CNNM2*, обильная экспрессия которого обнаружена и в других органах и тканях [195-197]. Во-вторых, не понятна роль этого протеина в ТЛВПГ, где, по современным представлениям, происходит пассивная реабсорбция Mg^{2+} . Как остроумно замечают авторы одной

из приведенных статей, это или указывает на участие *CNNM2* в парацеллюлярном транспорте Mg^{2+} , или вновь инициирует дебаты по поводу наличия компонента активного переноса этого катиона в ТЛВПГ, как это в свое время обсуждалось в известном обзоре G.A. Quamme [198]. И наконец, в-третьих, пока нет точных данных, позволяющих ответить на вопрос: этот протеин прямо вовлечен в транспорт Mg^{2+} или обеспечивает Mg^{2+} -зависимый перенос Na^+ через базолатеральную мембрану почечного канальца [193]. Не сомневаемся, что ответы на эти вопросы появятся в самое ближайшее время.

Регуляция уровня внеклеточного магния

Как уже отмечалось, у здоровых людей концентрация магния в плазме крови поддерживается в довольно узких границах. Этот внеклеточный магний пребывает в процессе постоянного обмена со своими резервами в костях и мышцах. А это, в свою очередь, в значительной степени зависит от кишечной абсорбции потребляемого магния и его экскреции с мочой. Эти важнейшие транспортные процессы регулируются с помощью метаболических и гормональных влияний [152]. При этом особую роль играет регуляция реабсорбции Mg^{2+} в почечных канальцах. Так, давно известно, что снижение обратного всасывания Mg^{2+} происходит в условиях гипермагниемии, гиперкальциемии, метаболического ацидоза, фосфатного истощения. В условиях магниевой ограничения, напротив, реабсорбция катиона возрастает, равно как и на фоне метаболического алкалоза. Усиливается обратное всасывание Mg^{2+} в канальцах почек также под влиянием паратиреоидного гормона, кальцитонина, глюкагона, аргинин вазопрессина и эстрогенов [2]. Отметим, что все перечисленные эффекты были воспроизведены на клеточной линии дистальных извитых канальцев мышей (MDCT). Дополнительно на этих же клетках было зафиксировано усиление реабсорбции Mg^{2+} в условиях стимуляции β -адренорецепторов, применения простагландина E_2 , инсулина, альдостерона и кальцитриола [165, 199-201].

Ведущая роль в регуляции уровня внеклеточного Mg^{2+} (как и Ca^{2+}) принадлежит Ca^{2+}/Mg^{2+} -чувствительным рецепторам (CaSR). Как уже отмечалось, экспрессия этих рецепторов выявлена не только в клетках парацитовидных и цитовидной желез, но и практически вдоль всей длины нефрона. При этом в наибольшем количестве они обнаруживаются в петле Генле, ДИК и собирательных трубках внутренней медуллы [105, 106, 202]. Установлено, что в условиях повышенной плазменной концентрации Mg^{2+} (как и Ca^{2+}) связывается с внеклеточным доменом рецептора и инициирует многие внутриклеточные сигнальные каскады. Более подробно интимные механизмы функционирования CaSR рассмотрены при обсуждении регуляции кальциевого гомеостаза.

Здесь отметим лишь принципиально важный момент, касающийся избирательности этого рецептора по отношению к катионам Mg^{2+} и Ca^{2+} . Является ли взаимодействие рецептора с данными двухвалентными катионами неселективным или имеются раздельные механизмы, определяющие избирательную чувствительность к Mg^{2+} и Ca^{2+} ? В экспериментах с использованием клеточной культуры показано, что клетки MDCT обладают примерно одинаковой чувствительностью к обоим катионам, когда их концентрация приблизительно соответствует плазменной [203]. Так, их полумаксимальная эффективная концентрация составила 1,5 мМ для Ca^{2+} и 0,5 мМ для Mg^{2+} , что адекватно нормальному содержанию этих катионов в плазме крови. Интересно, что в клетках MDCT чувствительность рецепторов к Mg^{2+} сохранялась в присутствии в среде Ca^{2+} [203]. В то же время, эксперименты с внедрением различных мутаций в аминокислотную последовательность CaSR с последующей трансфекцией мутированного рецептора в клеточную среду показали, что чувствительность CaSR мышей может изменяться не одинаково по отношению к Ca^{2+} и Mg^{2+} . Так, в исследовании Н.Браüнер-Осборне с соавторами показатель EC50 для Mg^{2+} значительно снижался, тогда как для Ca^{2+} – повышался в результате мутаций Ser¹⁴⁷ и Ser¹⁷⁰, в аминокислотном домене рецептора и был вовлечен в процесс связывания агонистов [204]. Исходя из полученных данных, было высказано предположение о том, что особенностью CaSR является наличие отдельных, но взаимосвязанных мест фиксации Mg^{2+} и Ca^{2+} [203]. К сожалению, места эти до сих пор остаются неопределенными.

Авторы не имеют конфликта интересов

The authors declare no conflict of interests

Список литературы

1. Robertson W.G., Marshall R.W. Calcium measurements in serum and plasma – Total and ionized. CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 1979; 11: 271-304.
2. Брюханов В.М., Зверев Я.Ф. Гомеостаз кальция и магния в норме и при патологии. Барнаул, ИП Колмогоров И.А., 2014; 187 с.
Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F. Gomeostaz kaltsiya i magniya v norme i pri patologii. Barnaul, IP Kolmogorov I.A., 2014; 187 s.
3. Blaine J., Chonchol M., Levi M. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 2015; 10: 1257-1272.
4. Dimke H., Hoenderop J.G., Bindels R.J. Hereditary tubular transport disorders: implications for renal handling of Ca^{2+} and Mg^{2+} . Clin. Sci. 2010; 118: 1-18.
5. Riccardi D, Brown E.M. Physiology and pathophysiology of the calcium-sensing receptor in the kidney. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2010; 298 (3): F485-F499.
6. Peacock M. Calcium metabolism in health and disease. CJASN. 2010; (5 Suppl): S23-S30.
7. Miller R.T. Control of renal calcium, phosphate, electrolyte, and water excretion by the calcium-sensing receptor. Best Practice & Res Clin. Endocrinol. & Metabolism. 2013; 27: 345:358.
8. Na T., Peng J-B. TRPV5: A Ca^{2+} channel for the fine-tuning of Ca^{2+} reabsorption. In: Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels. Nilius B, Flockerzi V. eds. Handbook of Experimental Pharmacology 222. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. 2014; P. 322-357.
9. Bronner F., Pansu D. Nutritional aspects of calcium absorption. J. Nutr. 1999; 129: 9-12.
10. McCormick C.C. Passive diffusion does not play a major role in the absorption of dietary calcium in normal adults. J. Nutr. 2001; 132: 3428-3430.
11. Bianco S.D., Peng J.R., Takanaga H. et al. Marked disturbance of calcium homeostasis in mice with targeted disruption of the Trpv6 calcium channel gene. J. Bone Miner. Res. 2007; 22: 274-285.
12. Benn B.S., Ajibade D., Porta A. et al. Active intestinal calcium transport in the absence of transient receptor potential vanilloid type 6 and calbindin-D_{9k}. Endocrinology. 2008; 149: 3196-3205.
13. Wasserman R.H., Fullmer C.S. Vitamin D and intestinal calcium transport: facts speculations and hypotheses. J. Nutr. 1995; 125: 1971S-1979S.
14. Hoenderop J.G., van Leeuwen J.P., van der Eerden B.C. et al. Renal Ca^{2+} wasting hyperabsorption and reduced bone thickness in mice lacking TRPV5. J. Clin. Invest. 2003; 112: 1906-1914.
15. Keller J., Schinke T. The role of the gastrointestinal tract in calcium homeostasis and bone remodeling. Osteoporos. Int. 2013; 24: 27137-2748.
16. Talmage R.V., Mobley H.T. Calcium homeostasis: Reassessment of the actions of para-thyroid hormone. Gen. Comp. Endocrinol. 2008; 156: 1-8.
17. van der Eerden B.C., Hoenderop J.G., de Vries T.J. et al. The epithelial Ca^{2+} channel TRPV5 is essential for proper osteoclastic bone resorption. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 2005; 102 (48): 17507-17512.
18. Masuyama R., Vriens J., Voets T. et al. TRPV4-mediated calcium influx regulates terminal differentiation of osteoclasts. Cell. Metab. 2008; 8 (3): 257-265.
19. Dimke H., Hoenderop J.G., Bindels R.J.M. Molecular basis of epithelial Ca^{2+} and Mg^{2+} transport: insights from the TRP channel family. J. Physiol. 2011; 589: 1535-1542.
20. Suki W.N. Calcium transport in the nephron. Am. J. Physiol. 1979; 237: F1-F6.
21. Seldin D.W. Renal handling of calcium. Nephron. 1999; 81 (Suppl 1): 2-7.
22. Ng R.C., Rouse D., Suki W.N. Calcium transport in the rabbit superficial proximal convoluted tubule. J. Clin. Invest. 1984; 74: 834-842.
23. Le Grimellec C. Micropuncture study along the proximal convoluted tubule. Electrolyte reabsorption in first convolutions. Pflugers Arch. 1975; 354: 133-150.
24. Suki W.N., Schwetmann R.S., Rector F.C., Seldin D.W. Effect of chronic mineralocorticoid administration on calcium

excretion in the rat. *Am. J. Physiol.* 1968; 215: 71-74.

25. *Hou J., Rajagopal M., Yu A.S.L.* Claudins and the kidney volume 75: annual review of physiology. *Annu. Rev. Physiol.* 2013; 75: 479-501.

26. *Muto S., Hata M., Taniguchi J. et al.* Claudin-2-deficient mice are defective in the leaky and cation-selective paracellular permeability properties of renal proximal tubules. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2010; 107: 8011-8016.

27. *Felsenfeld A., Rodriguez M., Levine B.* New insights in regulation of calcium homeostasis. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2013; 22 (4): 371-376.

28. *Hou J.* New light on the role of claudins in the kidney. *Organogenesis.* 2012; 8 (1): 1-9.

29. *Bleich V., Shan Q., Himmerkus N.* Calcium regulation of tight junction permeability. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2012; 1258: 93-99.

30. *Yu A.S.L.* Claudins and the kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2015; 26: 11-19.

31. *Machén T.E., Ertij D., Wooding F.B.* Permeable junctional complexes. The movement of lanthanum across rabbit gallbladder and intestine. *J. Cell. Biol.* 1972; 54: 302-312.

32. *Марков А.Г.* Белки плотных контактов клаудины: молекулярное звено парацеллюлярного транспорта. *Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова.* 2013; 99 (2): 175-195.

Markov A.G. Claudins as tight junction proteins: the molecular element of paracellular transport. *Ros. Physiol. Zhurn. im. I.M.Sechenova.* 2013; 99 (2): 175-195. (Transl. from Russian).

33. *Furuse M., Fujita K., Hiragi T. et al.* Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occluding. *J. Cell. Biol.* 1998; 141: 1539-1550.

34. *Mineta K., Yamamoto Y., Yamazaki Y. et al.* Predicted expansion of the claudin multigene family. *FEBS Lett.* 2011; 585: 606-612.

35. *Tsukita S., Furuse M., Itoh M.* Multifunctional strands in tight junctions. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2001; 2: 285-293.

36. *Lal-Nag M., Morin P.J.* The claudins. *Genome Biol.* 2009; 10 (8): 235 (Published online) URL: 10.1186/gb-2009-10-8-235.

37. *Günzel D., Yu A.S.L.* Function and regulation of claudins in the thick ascending limb of Henle. *Pflugers Arch.* 2009; 458 (1): 77-88.

38. *Angelow S., Abstrom R., Yu A.S.L.* Biology of claudins. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2008; 295: 867-876.

39. *Terry S., Nie M., Matter K., Balda M.S.* Rho signaling and tight junction functions. *Physiology.* 2010; 25: 16-26.

40. *McCarthy K.M., Francis S.A., McCormack J.M. et al.* Inducible expression of claudin-1-myc but not occluding-VSV-G results in aberrant tight junction strand formation in MDCK cells. *J. Cell. Sci.* 2000; 113 (Pt 19): 3387-3398.

41. *Itallie C.M., Fanning A.S., Anderson J.M.* eversal of charge selectivity in cation or anion-selective epithelial lines by expression of different claudins. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2003; 285: F1078-F1084.

42. *Yu A.S., Enck A.H., Lencer W.I., Schneeberger E.E.* Claudin-8 expression in Madin-Darby canine kidney cells augments the paracellular barrier to cation permeation. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 17350-17359.

43. *Wen H., Watry D.D., Marcondes M.C., Fox H.S.* Selective

decrease in paracellular conductance of tight junctions: role of the first extracellular domain of claudin-5. *Mol. Cell. Biol.* 2004; 24: 8408-8417.

44. *Angelow S., El-Husseini R., Kançawa S.A., Yu A.S.* Renal localization and function of the tight junction protein, claudin-19. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2007; 293: F166-F177.

45. *Nakano Y., Kim S.H., Kim H.M. et al.* A claudin-9-based ion permeability barrier is essential for hearing. *PLoS Genet.* 2009; 5: e1000610 (Published online) URL: 10.1371/journal.pgen.1000610.

46. *Simon D.B., Lu Y., Choate K.A. et al.* Paracellin-1, a renal tight junction protein, required for paracellular Mg²⁺ resorption. *Science.* 1999; 285: 103-106.

47. *Kiuchi-Saishin Y., Gotob S., Furuse M. et al.* Differential expression patterns of claudins, tight junction membrane proteins, in mouse nephron segments. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002; 13: 875-886.

48. *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.

49. *Ohta H., Adachi H., Takiguchi M. et al.* Restricted localization of claudin-16 at the tight junction in the thick ascending limb of Henle's loop together with claudins 3, 4 and 10 in bovine nephrons. *J. Vet. Med. Sci.* 2006; 68: 453-463.

50. *Van Itallie C.M., Rogan S., Yu A.S. et al.* Two splice variants of claudin-10 in the kidney create paracellular pores with different ion selectivities. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2006; 291: F1288-F1299.

51. *Angelow S., Yu A.S.L.* Claudins and paracellular transport: an update. *Curr. Opin. Nephrol.Hypertens.* 2007; 16: 459-464.

52. *Muto S, Hata M., Taniguchi J. et al.* Claudin-2-deficient mice are defective in the leaky and cation-selective paracellular permeability properties of renal proximal tubules. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2010; 107: 8011-8016.

53. *Colegio O.R., Itallie C., Rabner C., Anderson J.M.* Claudin extracellular domains determine paracellular charge selectivity and resistance but not tight junction fibril architecture. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2003; 284: C1346-C1354.

54. *Colegio O.R., Itallie C.M., McCreagh H.J. et al.* Claudins create charge-selective channels in the paracellular pathway between epithelial cells. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2002; 283: C142-C147.

55. *Hou J., Renigunta A., Gomes A.S. et al.* Claudin-16 and claudin-19 interaction is required for their assembly into tight junction and for renal reabsorption of magnesium. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2009; 106 (36): 15350-15355.

56. *Gong Y., Renigunta V., Himmerkus N. et al.* Claudin-14 regulates renal Ca⁺⁺ transport in response to CaSR signaling via a novel microRNA pathway. *EMBO J.* 2012; 31 (8): 1999-2012.

57. *Ben-Yosef T., Behyantseva I.A., Saunders T.L. et al.* Claudin 14 knockout mice, a model for autosomal recessive deafness DFNB29, are deaf due to cochlear hair cell degeneration. *Hum. Mol. Genet.* 2003; 12: 2049-2061.

58. *Elkhouby-Naor L., Abassi Z., Lagziel A. et al.* Double gene deletion reveals lack of cooperation between claudin11 and claudin 14 tight junction proteins. *Cell. Tissue Res.* 2008; 333:

427-438.

59. *Enck A.H., Berger U.V., Yu A.S.* Claudin-2 is selectively expressed in proximal nephron in mouse kidney. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2001; 281: F966-F974.
60. *Yu A.S., Cheng M.H., Angelow S. et al.* Molecular basis for cation selectivity in claudin-2-based paracellular pores: identification of an electrostatic interaction site. *J. Gen. Physiol.* 2009; 133: 111-127.
61. *Reilly R.F., Ellison D.H.* Mammalian distal tubule: physiology, pathophysiology, and molecular anatomy. *Physiol. Rev.* 2000; 80: 277-313.
62. *Agus Z.S., Chiu P.J., Goldberg M.* Regulation of urinary calcium excretion in the rat. *Am. J. Physiol.* 1977; 232: F545-F549.
63. *Hoenderop J.G.J., Bindels R.J.M.* Epithelial Ca²⁺ and Mg²⁺ channels in health and disease. *JASN.* 2005; 16 (1): 15-26.
64. *Романенко С.В., Костюк П.Г., Костюк Е.П.* Транс-мембранна кальцієва сигналізація – роль у ноцицепції. *Журн. Акад. Мед. Наук України.* 2008; 14 (1): 3-25.
- Romanenko S.V., Kostyuk P.G., Kostyuk E.P.* Transmembranna kaltsieva sygnalizatsiya – rol u noitsitsepsii. *Zhurn. Akad. Med. Nauk Ukrainy.* 2008; 14 (1): 3-25. (Transl. From Ukrainian).
65. *Васильєва І.О., Негубаєв Ю.А., Марахова І.І., Семєнова С.В.* TRPV5 и TRPV6 кальциевые каналы в Т клетках человека. *Цитология.* 2008; 50 (11): 953-957.
- Vassilieva I.O., Negubaev Yu.A., Marakhova I.I., Semenova S.B.* TRPV5 and TRPV6 calcium channels in human T cells. *Tsitologiya.* 2008; 50 (11): 953-957. (Transl. From Russian).
66. *Voets T., Prenen J., Vriens J. et al.* Molecular determinants of permeation through the cation channel TRPV4. *J. Biol. Chem.* 2002; 277 (37): 33704-33710.
67. *Hoenderop J.G., Bindels R.J.* Calcitropic and magnesium-tropic TRP channels. *Physiology (Bethesda).* 2008; 23: 32-40.
68. *Hoenderop J.G., van der Kemp A.W., Hartog A. et al.* Molecular identification of the apical Ca²⁺ channel in 1,25-dihydroxyvitamin D₃-responsive epithelia. *J. Biol. Chem.* 1999; 274 (13): 8375-8378.
69. *Peng J.B., Chen X.Z., Berger U.V. et al.* Molecular cloning and characterization of channel-like transporter mediating intestinal calcium absorption. *J. Biol. Chem.* 1999; 274 (32): 22739-22746.
70. *Muller D., Hoenderop J.G., Merckx G.F. et al.* Gene structure and chromosomal mapping of human epithelial calcium channel. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 275: 47-52.
71. *Peng J.B., Brown E.M., Hediger M.A.* Structural conservation of the genes encoding CaT1, CaT2 and related cation channels. *Genomics.* 2001; 76: 99-109.
72. *Weber K., Erben R.G., Rump A., Adamski J.* Gene structure and regulation of the murine epithelial calcium channels ECaC1 and 2. *J. Physiol (Lond).* 2001; 537: 747-761.
73. *Nijenhuis T., Hoenderop J.G.J., van der Kemp A.W.C.M., Bindels R.J.M.* Localization and regulation of the epithelial Ca²⁺ channel TRPV6 in the kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003; 14 (11): 2731-2740.
74. *Voets T., Janssens A., Droogmans G., Nilius B.* Outer pore architecture of a Ca²⁺-selective TRP channel. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 15223-15230.
75. *Hoenderop J.G., Nilius B., Bindels R.J.* Molecular mechanisms of active Ca²⁺ reabsorption in the distal nephron. *Annu. Rev. Physiol.* 2002; 64: 529-549.
76. *Lambers T.T., Mabieu F., Oancea E. et al.* Calbindin D28k dynamically controls TRPV5-mediated Ca²⁺ transport. *EMBO J.* 2006; 25: 2978-2988.
77. *Lee C-T., Ng H-Y., Lee Y-T. et al.* The role of calbindin-D_{28k} on renal calcium and magnesium handling during treatment with loop and thiazide diuretics. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2016; 310: F230-F236.
78. *Bindels R.J., Hartog A., Timmermans J., Van Os C.H.* Active Ca²⁺ transport in primary cultures of rabbit kidney CCD: Stimulation by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and PTH. *Am. J. Physiol.* 1991; 261 (5 Pt 2): F799-F807.
79. *Gesek F.A., Friedman P.A.* Calcitonin stimulates calcium transport in distal convoluted tubule cells. *Am. J. Physiol.* 1993; 264 (4 Pt 2): F744-F751.
80. *Friedman P.A., Coutermarsh B.A., Kennedy S.M., Gesek F.A.* Parathyroid hormone stimulation of calcium transport is mediated by dual signaling mechanisms involving protein kinase A and protein kinase C. *Endocrinology.* 1996; 137 (1): 13-20.
81. *Peng J.B., Zhuang L., Berger U.V. et al.* CaT1 expression correlates with tumor grade in prostate cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001; 282 (3): 729-734.
82. *Van Cromphaut S.J., Dewerchin M., Hoenderop J.G. et al.* Duodenal calcium absorption in vitamin D receptor-knockout mice: Functional and molecular aspects. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2001; 98 (23): 13324-13329.
83. *Van Cromphaut S.J., Rummens K., Stockmans I. et al.* Intestinal calcium transporter genes are upregulated by estrogens and the reproductive cycle through vitamin D receptor-independent mechanisms. *J. Bone Miner. Res.* 2003; 18 (10): 1725-1736.
84. *Hoenderop J.G., Dardenne O., van Abel M. et al.* Modulation of renal Ca²⁺ transport protein genes by dietary Ca²⁺ and 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase knockout mice. *FASEB J.* 2002; 16 (11): 1398-1406.
85. *Hoenderop J.G., Chon H., Gkika D. et al.* Regulation of gene expression by dietary Ca²⁺ in kidneys of 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase knockout mice. *Kidney Int.* 2004; 65 (2): 531-539.
86. *Van Abel M., Hoenderop J.G., Dardenne O. et al.* 1,25-dihydroxyvitamin D₃-independent stimulatory effect of estrogen on the expression of ECaC1 in the kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002; 13 (8): 2102-2109.
87. *Boros S., Bindels R.J., Hoenderop J.G.* Active Ca²⁺ reabsorption in the connecting tubule. *Pflugers Arch.* 2009; 458 (1): 99-109.
88. *Hsu Y.J., Dimke H., Schoeber J.P. et al.* Testosterone increases urinary calcium excretion and inhibits expression of renal calcium transport proteins. *Kidney Int.* 2010; 77 (7): 601-608.
89. *Brown E.M., Gamba G., Riccardi D. et al.* Cloning and characterization of an extracellular Ca²⁺-sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature.* 1993; 366: 575-580.
90. *Tfelt-Hansen J., Brown E.M.* The calcium-sensing receptor in normal physiology and pathophysiology: a review. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2005; 42: 35-70.
91. *Nemeth E.F., Steffey M.E., Hammerland L.G. et al.* Calcimimetics with potent and selective activity on the parathyroid calcium receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1998; 95: 4040-4045.

92. *Fudge N.J., Kovacs C.S.* Physiological studies in heterozygous calcium sensing receptor (CaSR) gene-ablated mice confirm that the CaSR regulates calcitonin release in vivo. *BMC Physiol.* 2004; 4: 5.
93. *Brauner-Osborne H., Wellendorph P., Jensen A.A.* Structure, pharmacology and therapeutic prospects of family C G-protein coupled receptors. *Curr. Drug Targets.* 2007; 8: 169-184.
94. *Aida K., Koishi S., Tamata M., Onaya T.* Molecular cloning of a putative Ca^{2+} -sensing receptor cDNA from human kidney. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995; 214 (2): 524-529.
95. *Janicic N., Soliman E., Pausova Z. et al.* Mapping of the calcium-sensing receptor gene (CASR) to human chromosome 3q13.3-21 by fluorescence in situ hybridization, and localization to rat chromosome 11 and mouse chromosome 16. *Mamm. Genome.* 1995; 6 (11): 798-801.
96. *Garrett J.E., Capuano I.V., Hammerland L.G. et al.* Molecular cloning and functional expression of human parathyroid calcium receptor cDNAs. *J. Biol. Chem.* 1995; 270 (21): 12919-12925.
97. *Silve C., Petrel C., Leroy C. et al.* Delineating a Ca^{2+} binding pocket within the venus flytrap module of the human calcium-sensing receptor. *J. Biol. Chem.* 2005; 280: 37917-37923.
98. *Huang C., Miller R.T.* The calcium-sensing receptor and its interacting proteins. *J. Cell. Mol. Med.* 2007; 11: 923-934.
99. *Conigrave A.D., Mun H.C., Brennan S.C.* Physiological significance of l-amino acid sensing by extracellular Ca^{2+} -sensing receptors. *Biochem. Soc. Trans.* 2007; 35: 1195-1198.
100. *Hu J., Spiegel A.M.* Naturally occurring mutations in the extracellular Ca^{2+} -sensing receptor: implications for its structure and function. *Trends Endocrinol. Metab.* 2003; 14: 282-288.
101. *Gowen M., Stroup G.B., Dodds R.A. et al.* Antagonizing the parathyroid calcium receptor stimulates parathyroid hormone secretion and bone formation in osteopenic rats. *J. Clin. Invest.* 2000; 105: 1595-1604.
102. *Brown E.M.* Clinical lessons from the calcium-sensing receptor. *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.* 2007; 3: 122-133.
103. *Mithal A., Kifor O., Kifor I. et al.* The reduced responsiveness of cultured bovine parathyroid cells to extracellular Ca^{2+} is associated with marked reduction in the expression of extracellular Ca^{2+} -sensing receptor messenger ribonucleic acid and protein. *Endocrinology.* 1995; 136 (7): 3087-3092.
104. *Garfia B., Canadillas S., Canalejo A. et al.* Regulation of parathyroid vitamin D receptor expression by extracellular calcium. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002; 13: 2945-2952.
105. *Riccardi D., Hall A.E., Chattopadhyay N. et al.* Localization of extracellular Ca^{2+} /polyvalent cation-sensing protein in rat kidney. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 1998; 274: F611-F622.
106. *Riccardi D., Lee W.C., Lee K. et al.* Localization of the extracellular Ca^{2+} -sensing receptor and PTH/PTHrP receptor in rat kidney. *Am. J. Physiol. Renal Fluid Electrolyte Physiol.* 1996; 271: F951-F956.
107. *Topala C.N., Schoeber J.P., Searchfield L.E.* Activation of the Ca^{2+} -sensing receptor stimulates the activity of the epithelial Ca^{2+} channel TRPV5. *Cell. Calcium* 2009; 45: 331-339.
108. *Renkema K.Y., Velic A., Dijkman H.B. et al.* The calcium-sensing receptor promotes urinary acidification to prevent nephrolithiasis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009; 20: 1705-1713.
109. *Beierwaltes W.H.* The role of calcium in the regulation of renin secretion. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2010; 298: F1-F11.
110. *Egbuna O., Quinn S., Kantam L. et al.* The full-length calcium-sensing receptor dampens the calcemic response to 1 alpha, 25(OH)₂ vitamin D₃ in vivo independent of parathyroid hormone. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2009; 297: F720-F728.
111. *Riccardi D., Traebert M., Ward D.T. et al.* Dietary phosphate and parathyroid hormone alter the expression of calcium-sensing receptor (CaR) and the Na^{+} -dependent Pi transporter (NaPi-2) in the rat proximal tubule. *Pflugers Arch.* 2000; 441: 379-387.
112. *Canaff L., Hendy G.N.* Human calcium-sensing receptor gene. Vitamin D response elements in promoters P1 and P2 confer transcriptional responsiveness to 1,25-dihydrovitamin D. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 30337-30350.
113. *Wang W.H., Lu M., Hebert S.C.* Cytochrome P-450 metabolites mediate extracellular Ca^{2+} -induced inhibition of apical K^{+} channels in the TAL. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 1996; 271: C103-C111.
114. *Sands J.M., Naruse M., Baum M. et al.* Apical extracellular calcium/polyvalent cation-sensing receptor regulates vasopressin-elicited water permeability in rat kidney inner medullary collecting duct. *J. Clin. Invest.* 1997; 99: 1399-1405.
115. *Valenti G., Procino G., Tamma G. et al.* Minireview: aquaporin 2 trafficking. *Endocrinology.* 2005; 146: 5063-5070.
116. *Pearce S.H., Williamson C., Kifor O. et al.* A familial syndrome of hypocalcemia with hypercalciuria due to mutations in the calcium-sensing receptor. *N. Engl. J. Med.* 1996; 335: 1115-1122.
117. *Alfadda T.I., Saleb A.M.A., Houiller P., Geibel J.P.* Calcium-sensing receptor 20 years later. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2014; 307: C221-C231.
118. *Kantam L., Quinn S.J., Egbuna O.I. et al.* The calcium-sensing receptor (CaSR) defends against hypercalcemia independently of its regulation of parathyroid hormone secretion. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2009; 94: 4749-4756.
119. *Geibel J.P., Hebert S.C.* The function and roles of the extracellular Ca^{2+} -sensing receptor along the gastrointestinal tract. *Annu. Rev. Physiol.* 2009; 71: 205-217.
120. *Quarles L.D., Hartle J.E. 2., Siddhanti S.R. et al.* A distinct cation-sensing mechanism in MC3T3-E1 osteoblasts functionally related to the calcium receptor. *J. Bone Miner. Res.* 1997; 12 (3): 393-402.
121. *Kameda T., Mano H., Yamada Y. et al.* Calcium-sensing receptor in mature osteoclasts, which are bone-resorbing cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998; 245 (2): 419-422.
122. *Yamaguchi T., Kifor O., Chattopadhyay N., Brown E.M.* Expression of extracellular calcium (Ca^{2+})_s-sensing receptor in the clonal osteoblast-like cell lines, UMR-106 and SAOS-2. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998; 243 (3): 753-757.
123. *Dvorak M.M., Siddiqua A., Ward D.T. 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; 101: 5140-5145.
124. *Chang W., Tu C., Chen T.H. et al.* The extracellular calcium-sensing receptor (CaSR) is a critical modulator of skeletal development. *Sci. Signal.* 2008; 1 (35): 1-13.
125. *Kovacs C.S., Ho-Pao C.L., Hunzelman J.L. et al.* Regulation of murine fetal-placental calcium metabolism by the

- calcium-sensing receptor. *J. Clin. Invest.* 1998; 101: 2812-2820.
126. *VanHouten J., Dann P., McGeoch G. et al.* The calcium-sensing receptor regulates mammary gland parathyroid hormone-related protein production and calcium transport. *J. Clin. Invest.* 2004; 113: 598-608.
127. *McNeil S.E., Hobson S.A., Nipper V., Rodland K.D.* 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; 273 (2): 1114-1120.
128. *Bikle D.D., Ratnam A., Mauro T. et al.* Changes in calcium responsiveness and handling during keratinocyte differentiation. Potential role of the calcium receptor. *J. Clin. Invest.* 1996; 97 (4): 1085-1093.
129. *Chakrabarty S., Wang H., Canaff L. et al.* Calcium sensing receptor in human colon carcinoma: interaction with Ca^{2+} and 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Cancer Res.* 2005; 65 (2): 493-498.
130. *Chattopadhyay N., Ye C., Singh D.P. et al.* Expression of extracellular calcium-sensing receptor by human lens epithelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997; 233 (3): 801-805.
131. *Lin K.I., Chattopadhyay N., Bai M. et al.* Elevated extracellular calcium can prevent apoptosis via the calcium-sensing receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998; 249 (2): 325-331.
132. *Van Den Hurk M.J., Jenks B.G., Roubos E.W., Scheenen W.J.* The extracellular calcium-sensing receptor increases the number of calcium steps and action currents in pituitary melanotrope cells. *Neurosci. Lett.* 2005; 377 (2): 125-129.
133. *Kato M., Dai R., Imamura M. et al.* Calcium-evoked insulin release from insulinoma cells is mediated via calcium-sensing receptor. *Surgery.* 1997; 122 (6): 1203-1211.
134. *Ray J.M., Squires P.E., Curtis S.B. et al.* Expression of calcium sensing receptor on human antral gastrin cells in culture. *J. Clin. Invest.* 1997; 99 (10): 2328-2333.
135. *Canaff L., Petit J.L., Kisiel M. et al.* Extracellular calcium-sensing receptor is expressed in rat hepatocytes coupling to intracellular calcium mobilization and stimulation of bile flow. *J. Biol. Chem.* 2001; 276 (6): 4070-4079.
136. *D'Souza-Li L.* The calcium-sensing receptor and related diseases. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2006; 50 (4): 628-639.
137. *Jahnen-Dechent W., Ketteler M.* Magnesium basics. *Clin. Kidney J.* 2012; 5 (Suppl 1): i3-i14.
138. *de Baaij J.H.F., Hoenderop J.G.J., Bindels R.J.* Magnesium in man: implications for health and disease. *Physiol. Rev.* 2015; 95: 1-46.
139. *Спасов А.А.* Магний в медицинской практике. Волгоград, Отрок, 2000; 272 с.
- Spasov A.A.* Magniy v meditsinskoj praktike. Volgograd, Otrok, 2000; 272 s. (Transl. From Russian).
140. *Fine K.D., Santa Ana C.A., Porter J.L., Fordtran J.S.* Intestinal absorption of magnesium from food and supplements. *J. Clin. Invest.* 1991; 88: 396-402.
141. *Kerstan D., Quamme G.* Physiology and pathophysiology of intestinal absorption of magnesium. In: Massry SG, Morii H, Nishizawa Y, eds. Calcium in internal medicine. Springer-Verlag London, 2002; 171-183.
142. *Konrad M., Weber S.* Recent advances in molecular genetics of hereditary magnesium-losing disorders. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003; 14 (1): 249-260.
143. *Schlingmann K.P., Weber S., Peters M. et al.* Hypomagnesemia with secondary hypocalcemia is caused by mutations in TRPM6, a new member of the TRPM gene family. *Nat. Genet.* 2002; 31 (2): 166-170.
144. *Walder R.Y., Landau D., Meyer P. et al.* Mutation of TRPM6 causes familial hypomagnesemia with secondary hypocalcemia. *Nat. Genet.* 2002; 31 (2): 171-174.
145. *Ryazanova L.V., Rondon L.J., Zierler S. et al.* TRPM7 is essential for Mg^{2+} homeostasis in mammals. *Nat. Commun.* 2010; 1: 109.
146. *Boskey A.L., Rimmac C.M., Bansal M. et al.* Effect of short-term hypomagnesemia on the chemical and mechanical properties of rat bone. *J. Orthop. Res.* 1992; 10 (6): 774-783.
147. *Kenney M.A., McCoy H., Williams L.* Effects of magnesium deficiency on strength, mass, and composition of rat femur. *Calcif. Tissue Int.* 1994; 54 (1): 44-49.
148. *Liu C., Yeb J., Alola J.* Magnesium directly stimulates osteoblast proliferation. *J. Bone Miner. Res.* 1988; 3: S104.
149. *Rude R.K., Gruber H.E., Norton H.J. et al.* Bone loss induced by dietary magnesium reduction to 10% of the nutrient requirement in rats is associated with increased release of sub-stance P and tumor necrosis factor-alpha. *J. Nutr.* 2004; 134: 79-85.
150. *Quamme G.A.* Laboratory evaluation of magnesium status. Renal function and free intracellular magnesium concentration. *Clin. Lab. Med.* 1993; 13: 209-223.
151. *Kelepouris E., Agus Z.S.* Hypomagnesemia: renal magnesium handling. *Semin. Nephrol.* 1998; 18: 58-73.
152. *Quamme G.A., de Rouffignac C.* Epithelial magnesium transport and regulation by the kidney. *Front. Biosci.* 2000; 5: D694-D711.
153. *Lelièvre-Pegorier M., Merlet-Bénichou C., Roinel N., de Rouffignac C.* Developmental pattern of water and electrolyte transport in the superficial nephron. *Am. J. Physiol.* 1983; 244: F15-F21.
154. *Wong N.L., Whiting S.J., Mizgala C.L., Quamme G.A.* Electrolyte handling by the superficial nephron of the rabbit. *Am. J. Physiol.* 1986; 250: F590-F595.
155. *Satoh J., Romero M.F.* Ma^{2+} transport in the kidney. *Bio-Metals.* 2002; 15: 285-295.
156. *Suki W.N., Rouse D., Ng R.C., Kokko J.P.* Calcium transport in the thick ascending limb of Henle. Heterogeneity of function in the medullary and cortical segments. *J. Clin. Invest.* 1980; 66: 1004-1009.
157. *Quamme G.A.* Effect of furosemide on calcium and magnesium transport in the rat nephron. *Am. J. Physiol.* 1981; 241: F340-F347.
158. *Quamme G.A.* Renal magnesium handling: New insights in understanding old problems. *Kidney Int.* 1997; 52: 1180-1195.
159. *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.
160. *Efrati E., Arsentiev-Rosenfeld J., Zeljkovic I.* The human paracellin-1 gene (hPCLN-1): renal epithelial cell-specific expression and regulation. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2005; 288 (2): F272-F283.

161. Breiderhoff T., Himmerkus N., Stuiver M. et al. Deletion of claudin-10 (Cldn 10) in the thick ascending limb impairs paracellular sodium permeability and leads to hyper-magnesemia and nephrocalcinosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2012; 109: 14241-14246.
162. Wright F.S. Increasing magnitude of electrical potential along the renal distal tubule. *Am. J. Physiol.* 1971; 220: 624-638.
163. Malnic G., Giebisch G. Some electrical properties of distal tubular epithelium in the rat. *Am. J. Physiol.* 1972; 223: 797-808.
164. Quamme G.A., Dirks J.H. Intraluminal and contraluminal magnesium on magnesium and calcium transfer in the rat nephron. *Am. J. Physiol.* 1980; 238: F187-F198.
165. Dai L.J., Ritchie G., Kerstan D. et al. Magnesium transport in the renal distal convoluted tubule. *Physiol. Rev.* 2001; 81 (1): 51-84.
166. Grubbs R.D. Intracellular magnesium and magnesium buffering. *BioMetals.* 2002; 15: 251-259.
167. Voets T., Nilius B., Hoefs S. et al. TRPM6 forms the Mg^{2+} influx channel involved in intestinal and renal Mg^{2+} absorption. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 19-25.
168. Schlingmann K.P., Weber S., Peters M. et al. Hypomagnesemia with secondary hypocalcemia is caused by mutations in TRPM6, a new member of the TRPM gene family. *Nat. Genet.* 2002; 31 (2): 166-170.
169. Walder R.Y., Landau D., Meyer P. et al. Mutation of TRPM6 causes familial hypomagnesemia with secondary hypocalcemia. *Nat. Genet.* 2002; 31 (2): 171-174.
170. Runnels L.W., Yue L., Clapham D.E. TRP-PLIK, a bifunctional protein with kinase and ion channel activities. *Science* 2001; 291 (5506): 1043-1047.
171. Chubanov V., Gudermann T., Schlingmann K.P. Essential role for TRPM6 in epithelial magnesium transport and body magnesium homeostasis. *Pflugers Arch.* 2005; 451 (1): 228-234.
172. Schlingmann K.P., Waldegger S., Konrad M. et al. TRPM6 and TRPM7 – Gatekeepers of human magnesium metabolism. *Biochim. Biophys. Acta.* 2007; 1772 (8): 813-821.
173. Groenestege W.M., Thébault S., van der Wijst J. et al. Impaired basolateral sorting of pro-EGF causes isolated recessive renal hypomagnesemia. *J. Clin. Invest.* 2007; 117 (8): 2260-2267.
174. Glandemans B., Knoers N.V., Hoenderop J.G., Bindels R.J. New molecular players facilitating Mg^{2+} reabsorption in the distal convoluted tubules. *Kidney Int.* 2010; 77 (1): 17-22.
175. Pham P.-C.T., Pham P.-A.T., Pham S.V. et al. Hypomagnesemia: a clinical perspective. *Int. J. Nephrol. Renovasc. Dis.* 2014; 7: 219-230.
176. Glandemans B., van der Wijst J., Scola R.H. et al. A missense mutation in the Kv1.1 voltage-gated potassium channel-encoding gene KCNA1 is linked to human autosomal dominant hypomagnesemia. *J. Clin. Invest.* 2009; 119 (4): 936-942.
177. Romani A.M.P. Cellular magnesium homeostasis. *Arch. Biochem. Biophys.* 2011; 512 (1): 1-23.
178. Günther T., Vormann J., Förster R. Regulation of intracellular magnesium by Mg^{2+} efflux. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1984; 119 (1): 124-131.
179. Günther T., Vormann J. Mg^{2+} efflux is accomplished by an amiloride-sensitive Na^+/Mg^{2+} antiport. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1985; 130 (2): 540-545.
180. Féray J.C., Garay R. A Na^+ -stimulated Mg^{2+} -transport system in human red blood cells. *Biochem. Biophys. Acta.* 1986; 856 (1): 76-84.
181. Lüdi H., Schatzmann H.J. Some properties of a system for sodium-dependent outward movement of magnesium from metabolizing human red blood cells. *J. Physiol.* 1987; 390: 367-382.
182. Flatman P.W., Smith L.M. Magnesium transport in ferret red cells. *J. Physiol.* 1990; 431: 11-25.
183. Xu W., Willis J.S. Sodium transport through the amiloride-sensitive $Na-Mg$ pathway of hamster red cells. *J. Membr. Biol.* 1994; 141 (3): 277-287.
184. Romani A., Mafella C., Scarpa A. Regulation of magnesium uptake and release in the heart and in isolated ventricular myocytes. *Circ. Res.* 1993; 72 (6): 1139-1148.
185. Fagan T.E., Romani A. Activation of $Na^{(+)}$ - and $Ca^{(2+)}$ -dependent $Mg^{(2+)}$ extrusion by $\alpha(1)$ - and β -adrenergic agonists in rat liver cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2000; 279 (5): G943-G950.
186. Günther T., Vormann J. Activation of Na^+/Mg^{2+} antiport in thymocytes by cAMP. *FEBS Lett.* 1992; 297 (1-2): 132-134.
187. Wolf F.I., Di Francesco A., Covacci V. et al. Regulation of intracellular magnesium in ascites cells: involvement of different regulatory pathways. *Arch. Biochem. Biophys.* 1996; 331 (2): 194-200.
188. Fagan T.E., Romani A. $\alpha(1)$ -Adrenoceptor-induced Mg^{2+} extrusion from rat hepatocytes occurs via Na^+ -dependent transport mechanism. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2001; 280 (6): G1145-G1156.
189. Cefaratti C., Romani A.M. Functional characterization of two distinct $Mg^{(2+)}$ extrusion mechanisms in cardiac sarcolemmal vesicles. *Mol. Cell. Biochem.* 2007; 303 (1-2): 63-72.
190. Cefaratti C., Ruse C. Protein kinase A dependent phosphorylation activates Mg^{2+} efflux in the basolateral region of the liver. *Mol. Cell. Biochim.* 2007; 297 (1-2): 209-214.
191. Günther T. Mechanisms and regulation of Mg^{2+} efflux and Mg^{2+} influx. *Miner. Electrolyte Metab.* 1993; 19 (4-5): 259-265.
192. Ebel H., Hollstein M., Günther T. Role on the choline exchanger in $Na^{(+)}$ -independent $Mg^{(2+)}$ efflux from rat erythrocytes. *Biochim. Biophys. Acta.* 2002; 1559 (2): 135-144.
193. Stuiver M., Lainez S., Will C. et al. CNNM₂, encoding a basolateral protein required for renal Mg^{2+} handling, is mutated in dominant hypomagnesemia. *Am. J. Hum. Genet.* 2011; 88 (3): 333-343.
194. de Baaij J.H., Stuiver M., Meij I.C. et al. Membrane topology and intracellular processing of cyclin M₂ (CNNM₂). *J. Biol. Chem.* 2012; 287 (17): 13644-13655.
195. Wang C.Y., Shi J.D., Yang P. et al. Molecular cloning and characterization of a novel gene family of four ancient conserved domain proteins (ACDP). *Gene.* 2003; 306: 37-44.
196. Wang C.Y., Yang P., Shi J.D. et al. Molecular cloning and characterization of the mouse Acdp gene family. *BMC Genomics.* 2004; 5: 7.
197. Goytain A., Quamme G.A. Functional characterization of ACDP₂ (ancient conserved domain protein, a divalent metal transporter). *Physiol. Genomics.* 2005; 22: 382-389.
198. Quamme G.A. Control of magnesium transport in the

thick ascending limb. *Am. J. Physiol.* 1989; 256: F197-F210.

199. *Dai L.J., Quamme G.A.* Intracellular Mg^{2+} and magnesium depletion in isolated renal thick ascending limb cells. *J. Clin. Invest.* 1991; 88: 1255-1264.

200. *Dai L.J., Bapty B.W., Ritchie G., Quamme G.A.* PGE_2 stimulates Mg^{2+} uptake in mouse distal convoluted tubule cells. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 1998. 275: F833-F839.

201. *Dai L.J., Bapty B.W., Ritchie G. et al.* Insulin stimulates Mg^{2+} uptake in mouse distal convoluted tubule cells. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 1999. 277: F907-F913.

202. *Yang T., Hassan S., Huang Y.G. et al.* Expression of PTHrP, PTH/PTHrP receptor and Ca^{2+} sensing receptor along the rat nephron. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 1997; 272: F751-F758.

203. *Bapty B.W., Dai L.J., Ritchie G. et al.* Extracellular Mg^{2+} and Ca^{2+} sensing in mouse distal convoluted tubule cells. *Kidney Int.* 1998; 53: 583-592.

204. *Braüner-Osborne H., Jensen A.A., Sheppard P.O. et al.* The agonist-binding domain of the calcium-sensing receptor is located at the amino-terminal domain. *J. Biol. Chem.* 1999; 274 (26): 18382-18386.

Дата получения статьи: 05.04.2018

Дата принятия к печати: 11.06.2018

Submitted: 05.04.2018

Accepted: 11.06.2018