

## Napětovo riadené vápnikové kanály: štruktúra, charakteristika a terminológia

VEIZEROVÁ, L., SVĚTLÍK, J., KETTMANN, V.

Univerzita Komenského, Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie, Bratislava, Slovenská republika

Došlo: 25. dubna 2007 / Prijato: 1. června 2007

### SÚHRN

#### Napětovo riadené vápnikové kanály: štruktúra, charakteristika a terminológia

Napětovo riadené vápnikové kanály predstavujú jeden z hlavných spôsobov vstupu kalcia do buniek. Ich aktivita je nevyhnutná pre spriahnutie elektrického signálu z povrchu bunky s fyziologickými dejmi vo vnútri buniek. Z elektrofyziologického a molekulárneho hľadiska bolo identifikovaných viacero typov farmakologicky, štruktúralne a kineticky odlišných vápnikových kanálov. Cieľom tohto review je popísať základné funkčné, farmakologické a štruktúralne vlastnosti napětovo riadených vápnikových kanálov.

**Kľúčové slová:** napětovo závislé  $\text{Ca}^{2+}$  kanály – typy vápnikových kanálov – elektrofyziológia – terminológia – podjednotky

Čes. slov. Farm.; 2007; 56, 178–182

### SUMMARY

#### Voltage gated calcium channels: structure, characteristics and terminology

Voltage-gated  $\text{Ca}^{2+}$  channels are the major pathway of  $\text{Ca}^{2+}$  entry into the cells. Their activity is essential to couple electrical signals from the cell surface to physiological events in cells. Several pharmacologically, structurally and kinetically distinct calcium channel types have been identified at the electrophysiological and molecular levels. This review aims to describe the functional, structural and pharmacological properties of voltage-gated calcium channels.

**Key words:** voltage-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  channels – types of calcium channel proteins – electrophysiology – terminology – subunits

Čes. slov. Farm.; 2007; 56, 178–182

Má

Vápnik je jedným z najviac zastúpených prvkov v ľudskom tele, kde zohráva tak fyziologickú ako aj patologickú úlohu. Jeho koncentrácia, pohyb a skladovanie podlieha vysokej regulácii<sup>1)</sup>. Ióny  $\text{Ca}^{2+}$  sú kľúčovou súčasťou komunikačných dráh (druhými poslami). Druhí poslovia sa pohotovo rozptyľujú po cytozole bunky a napomáhajú rýchlemu šíreniu signálov. Napriek tomu, že sú vápenaté ióny trvale prítomné v telesných tekutinách organizmu, môžu slúžiť ako druhý posol, pretože je ich koncentrácia v cytozole udržiavaná na veľmi nízkej hodnote vďaka proteínovým pumpám<sup>2)</sup>. Na zmenu koncentrácie vápenatého iónu v cytozole je citlivá široká škála štafetových proteínov<sup>3,4)</sup>. Účinky  $\text{Ca}^{2+}$  sú na väčši-

nu proteínov nepriame a sú sprostredkované radou prevodových proteínov nazývaných  $\text{Ca}^{2+}$  viažuce proteíny. Okrem všeobecne rozšíreného kalmodulínu (aj v rastlinnej ríši) sú známe napr. troponín C, kalcineurín, parvalbumín<sup>3)</sup>. Po naviazaní  $\text{Ca}^{2+}$  mení kalmodulín svoju konformáciu, a to mu umožňuje interagovať s celou skupinou cieľových proteínov a meniť ich aktivitu<sup>5)</sup>.  $\text{Ca}^{2+}$  sa tak podieľa na regulácii enzýmov, endokrinnej a exokrinnej sekrécii, kontrole génovej expresie, fungovaní imunitného systému, integrite bunkových membrán, koagulácii krvi, svalovej kontrakcii, metabolizme kostí, kortikálnej reakcii a metabolických zmenách vo vaječnej bunke, ďalej na rôznych pochodoch v nervovom systéme, akými

#### Adresa pro korespondenci:

Mgr. Lucía Veizerová  
Katedra farmaceutickej analýzy FaF UK  
Odbojárov 10, 832 32, Bratislava, SR  
e-mail: veizerova@fpharm.uniba.sk

sú uvoľňovanie neurotransmitérov, regulácia neuronálnej excitability alebo synaptogenéza atď. <sup>5-7</sup>).

Ak však nie sú pohyb a koncentrácia vápnika kontrolované, potom tento ión pôsobí ako patologický agens vyvolávajúci poškodenie a smrť bunky <sup>1,5</sup>).

Vápenaté ióny sú v cytozole udržiavané v nižších koncentráciách ako v extracelulárnej kvapaline. Čím nižšia je základná koncentrácia  $\text{Ca}^{2+}$  v cytozole, tým je bunka citlivejšia na vzrast koncentrácie cytozolického  $\text{Ca}^{2+}$  <sup>4</sup>). Eukaryotické bunky udržiujú v cytozole veľmi nízku koncentráciu voľných  $\text{Ca}^{2+}$  ( $10^{-8}$  až  $10^{-7}$  mol/l), oproti oveľa vyššej koncentrácii  $\text{Ca}^{2+}$  v okolí buniek ( $1-2 \cdot 10^{-4}$  mol/l) <sup>8</sup>), čo sa deje pomocou vápenatých pump poháňaných ATP, prítomných v plazmatickej membráne a v membráne endoplazmatického retikula, ktoré aktívne odčerpávajú  $\text{Ca}^{2+}$  z cytozolu <sup>2</sup>).

Veľmi nízka kľudová koncentrácia  $\text{Ca}^{2+}$  sa zvyšuje buď uvoľnením vápnika z intracelulárnych kompartmentov (mitochondria, sarkoplazmatické retikulum, bielkovinové nosiče), alebo otvorením napäťovo senzitivných  $\text{Ca}^{2+}$  kanálov a receptorovo ovládaných kanálov či sodíkovo vápnikovým výmenníkom a transportom špecifickými vápnik viažúcimi proteínmi <sup>2</sup>).

#### Napäťovo riadené vápnikové kanály – funkčné charakteristiky

Napäťovo riadené vápnikové kanály predstavujú jeden z hlavných spôsobov vstupu kalcia do buniek <sup>9</sup>). Selektívne prepúšťajú ióny  $\text{Ca}^{2+}$  v prítomnosti monovalentných katiónov ( $\text{Na}^+$  a  $\text{K}^+$ ), ktoré sa v ich okolí nachádzajú v 1000x vyššej koncentrácii. Mechanizmus selektivity nespočíva v selektívnom filtri pre ióny  $\text{Ca}^{2+}$ , ale v určitom druhu kompetitivity medzi iónmi.  $\text{Ca}^{2+}$  kanály sa totiž stávajú neselektívnymi katiónovými kanálmi v neprítomnosti  $\text{Ca}^{2+}$  a sú prestupné aj pre veľké monovalentné katióny ako napr. tetrametylamóniový katión <sup>10</sup>). Napäťovo riadené vápnikové kanály vykazujú rovnakú (T-typ) alebo vyššiu (ostatné typy) selektivitu voči iónom  $\text{Ba}^{2+}$ , zatiaľ čo katióny  $\text{Ni}^{2+}$  a  $\text{Cd}^{2+}$  tieto kanály blokujú <sup>11</sup>).

Vďaka napäťovo riadeným vápnikovým kanálom dochádza k spriahnutiu elektrického signálu na povrchu buniek s fyziologickými dejmi vo vnútri buniek <sup>12,13</sup>). Tento typ kanálov reaguje na zmenu membránového potenciálu a je otváraný depolarizáciou bunkovej membrány <sup>14</sup>). Silný negatívny náboj na vnútornej strane bunkovej membrány udržiava vápnikové kanály uzatvorené. Ako náhle začne na intracelulárnej strane membrány negatívny náboj klesať, dochádza k zmene konformácie kanálového proteínu, kanály sa otvoria a umožnia vápnikovým iónom preniknúť v smere koncentračného gradientu cez membránu do vnútra bunky <sup>2</sup>).

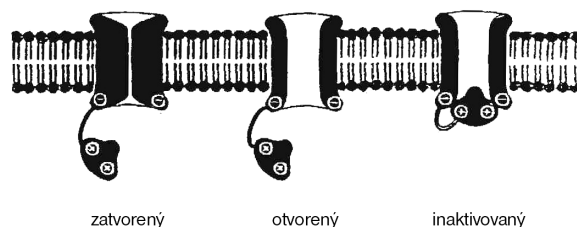
Počas pretrvávajúcej depolarizácie je počiatková aktivácia  $\text{Ca}^{2+}$  kanálov nasledovaná stratou aktivity (inaktiváciou). Inaktivácia kanálu je kľúčový mechanizmus, ktorý umožňuje vstup presného množstva  $\text{Ca}^{2+}$  do bunky a pomáha predísť kumulácii a dosiahnutiu cytotoxických koncentrácií  $\text{Ca}^{2+}$  v bunke <sup>15,16</sup>). Navyše veľké množstvo ligandov, ktoré majú kanál blokovať, preferujú interakciu s inaktivovaným stavom <sup>17</sup>). V súčasnosti sú známe tri typy inaktivácie <sup>18</sup>):

- rýchla napäťovo závislá inaktivácia (10–100 ms) <sup>19</sup>), na ktorej sa podieľajú štrukturálne prvky vápnikového kanálu (všetky štyri transmembránové domény  $\alpha_1$  podjednotky, I–II cytoplazmatická spojka  $\alpha_1$  podjednotky, ktorá funguje ako zátku blokujúca pór a  $\beta$  podjednotka, ktorá zohráva modulačnú úlohu v inaktivačnom procese – podrobný opis štruktúry viď ďalej);

- pomalá inaktivácia <sup>20</sup> trvajúca niekoľko sekúnd až minút je doposiaľ málo preštudovaná;

- $\text{Ca}^{2+}$  závislá inaktivácia je kontrolovaná vstupom vápnika do bunky. Dochádza pri nej k asociácii kalmódulínu s kanálom <sup>21</sup>).

Tretím konformačným stavom kanálu je zatvorený



Obr. 1. Tri základné stavy napäťovo riadených vápnikových kanálov

kanál (obr. 1), pri ktorom sú napäťové senzory v aktivovanom stave, ale kanál nie je otvorený a ióny  $\text{Ca}^{2+}$  neprúdia do bunky <sup>22</sup>).

#### Typy vápnikových kanálov

Kanály tvoria skupinu heteromérických proteínov, ktorá je súčasťou skupiny napäťovo riadených kanálov zahŕňujúcej sodíkové a draslíkové kanály <sup>23,24</sup>). Až doposiaľ bolo popísaných 6 tried (L-, T-, N-, P-, Q-, R-typ) napäťovo riadených vápnikových kanálov exprimovaných v membránach dráždivých buniek (neuróny, myocyty, sekretorické bunky) <sup>25</sup>). Tieto kanály sa líšia okrem iného vo svojich elektrofyziologických, štruktúrnych a farmakologických vlastnostiach (tab. 1). Rozdiel medzi P a Q kanálmi bolo ťažké stanoviť, preto sa v literatúre stretávame s pojmom P/Q kanály.

Otvorenie kanálu (umožňujúce tok extracelulárneho  $\text{Ca}^{2+}$  do bunky) závisí od napätia panujúceho na bunkovej membráne. Z elektrofyziologického hľadiska rozoznávame dve kategórie:

**A. LVA** (low voltage activated) – ide o nízkoprahový kanál aktivovaný malou depolarizáciou buniek a s rýchlou inaktiváciou (10–50 ms). K otvoreniu prichádza pri hodnotách membránového potenciálu  $-60 \sim -70$  mV <sup>11</sup>). Je tiež označovaný ako T-typ (transient channel) otvárajúci sa na krátku dobu. Tento typ je zastúpený vo veľkom množstve buniek (neuróny, hladký sval, sinoatriálny uzol) a je spájaný s pacemakerovou aktivitou.

**B. HVA** (high voltage activated) kanály typu L-, N-, P/Q- a R sa líšia lokalizáciou, biofyzikálnymi a farmakologickými vlastnosťami. Sú to vysokoprahové kanály aktivované veľkou zmenou membránového potenciálu, bez inaktivácie a otvárajúce sa na relatívne dlhú dobu <sup>25</sup>). Na ich aktiváciu sú potrebné hodnoty membránového

Tab. 1. Elektrofyziologická klasifikácia a charakteristika napätovo riadených vápnikových kanálov

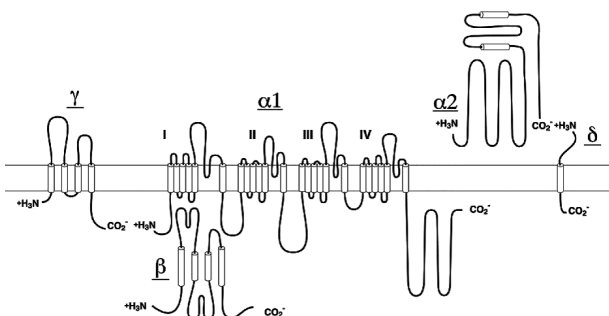
	T- <b>typ</b>	N- <b>typ</b>	L- <b>typ</b>	P/Q- <b>typ</b>	R- <b>typ</b>
kategória	LVA	HVA	HVA	HVA	HVA
aktivačný prah (mV)	-70	-20	-30 ~ -10	-60	-40
výskyt	Mozog, srdce, vaječníky, pečene, obličky, srdce	neuróny	Srdce, neuróny, hladká svalovina ciev, endokrinné bunky	Neuróny, srdce, pankreas, pituitary	Neuróny, srdce, semenníky, pituitary
antagonisti	Mibefradil, $\omega$ -Aga IIIA	$\omega$ -CTX GVIA, $\omega$ -Aga IIIA	DHP, PAA, BTZ	FTX, $\omega$ -CTX-MVIIC	$\omega$ -Aga IIIA

LVA – low voltage activated, HVA – high voltage activated,  $\omega$ -CTX GVIA –  $\omega$ - conotoxín GVIA z *Conus geographus*,  $\omega$ -Aga IIIA –  $\omega$ -agatoxín IIIA, DHP – dihydropyridíny, PAA – fenylalkylamíny, BTZ – benzothiazepíny, FTX – pavúčí toxín,  $\omega$ -CTX-MVIIC –  $\omega$ -conotoxín MVIIC z *Conus magnus*

potenciálu  $-40 \sim -10$  mV<sup>12)</sup>. L-**typ** kanál (long lasting channel) je hojne zastúpený v kardiovaskulárnom systéme a endokrinných bunkách<sup>13)</sup>, zatiaľ čo N, P/Q a R-**typ** sú spájané predovšetkým s neuronálnymi funkciami, kde sprostredkujú vstup  $Ca^{2+}$  do dendritov buniek<sup>26)</sup>.

### Štruktúra napätovo riadených vápnikových kanálov

Napätovo riadené  $Ca^{2+}$  kanály sú charakterizované ako komplex proteínov pozostávajúci zo štyroch alebo piatich podjednotiek, kódovaných mnohými génmi<sup>27)</sup>.  $Ca^{2+}$  kanál pozostáva z centrálnej, pór tvoriacej  $\alpha_1$  subjednotky, ktorá vyjadruje hlavné biofyzikálne a farmakologické rysy príslušného kanálu. Táto subjednotka je funkčne

Obr. 2. Podjednotky napätovo riadených  $Ca^{2+}$  kanálov<sup>11)</sup>

stabilizovaná v hetero-oligomérnom komplexe prostredníctvom pomocných podjednotiek  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  a  $\delta$  (obr. 2), ktoré riadia expresiu kanálového proteínu a jeho inkorporáciu do membrány, ovplyvňujú väzbu liečiva a otváracie vlastnosti  $\alpha_1$ <sup>28)</sup>. Aj keď pomocné jednotky sú významné, principiálne rozdiely medzi kalciovými kanálmi pochádzajú práve z rozdielov v  $\alpha_1$  podjednotke<sup>9, 25)</sup>. Doposiaľ bolo popísaných desať  $\alpha_1$ , päť  $\beta$ , štyri  $\alpha_2$  ( $\alpha_2$  a  $\delta$  sú kódované rovnakým génom) a osem  $\gamma$  podjednotiek<sup>29)</sup>.

#### $\alpha_1$ podjednotka

$\alpha_1$  podjednotka je najväčšou podjednotkou a nesie všetky funkčné prvky kanálu, t.j.  $Ca^{2+}$  pór, selektívny filter, napätový senzor ako i väzbové miesta pre ligandy<sup>30)</sup>.

Je to hydrofóbny polypeptid (190–250 kDa). Peptidový reťazec mnohonásobne prechádza fosfolipidovou dvojvrstvou bunkovej membrány. Je však presne usporiadaný: transmembránové úseky sa zoskupujú do štyroch rovnakých domén (I–IV). V každej z týchto domén vytvára polypeptidový reťazec šesť transmembránových segmentov ( $\alpha$ -helixy, S1–S6)<sup>31)</sup>. Domény sú usporiadané do kruhu, v ktorého centre leží iónový kanál. Každá tretia a štvrtá aminokyselina v S-4 segmente je reprezentovaná lyzínom alebo arginínom, pričom tento fragment s najväčšou pravdepodobnosťou predstavuje napätový senzor. Intracelulárna cytoplazmatická doména, ktorá spája segment S-6 domény I so segmentom S-1 domény II, plní dve funkcie: predstavuje jednak väzbové miesto pre  $G\alpha$  a  $G\beta\gamma$  prvky G-proteínu, jednak i kontaktné miesto s  $\beta$ -podjednotkou  $Ca^{2+}$  kanálu. Panuje domnienka že intracelulárna slučka medzi doménami II a III sa zúčastňuje elektromechanického spojenia. Medzi segmentmi S-5 a S-6 každej domény sa nachádza glutamátový zvyšok, ktorý v 3D usporiadaní kanálu tvorí časť kanálového póru (P-oblasť). V strede tohto póru sa nachádza väzbové miesto pre  $Ca^{2+}$  ióny. Ión  $Ca^{2+}$  sa dostane do bunky vtedy, keď sa ďalší ión  $Ca^{2+}$  viaže na pór. Podjednotky  $\alpha_1$  v P/Q, N a R-**type** kanálov, zodpovedné za iniciáciu synaptického transmissie, majú väčšiu intracelulárnu slučku spájajúcu doménu II a III, ktorá obsahuje interakčné miesto pre SNARE proteíny zodpovedné za exocytózu<sup>28)</sup>.

#### $\gamma$ -podjednotka

Podjednotka  $\gamma$  je extracelulárny, vysoko glykozylovaný proteín, o ktorom sa predpokladá, že zosilňuje vtok  $Ca^{2+}$  do P-oblasti. Výskyt  $\gamma$  podjednotky bol spočiatku spájaný s kostrovým svalom<sup>32)</sup>. Neskôr však bola dokázaná prítomnosť neuronálnej  $\gamma$  podjednotky<sup>33)</sup>. Doposiaľ bolo objavených 8  $\gamma$  podjednotiek ( $\gamma_1$ – $\gamma_8$ ).  $\gamma_1$  sa nachádza v kostrovom svale,  $\gamma_2$  a  $\gamma_3$  sú súčasťou P/Q- a N- kanálov. Ostatné typy, t.j.  $\gamma_4$ – $\gamma_8$  nie sú doposiaľ v literatúre bližšie charakterizované.  $\gamma$  podjednotka sa skladá zo štyroch transmembránových domén. Neuronálne  $\gamma$  podjednotky majú tiež väzbové miesto pre cAMP/cGMP fosforyláciu. Bolo dokázané, že interakčná doména  $\gamma$  podjednotky spolupracujúca s napätovo riadeným  $Ca^{2+}$  kanálom sa nachádza v prvej polovici  $\gamma$  podjednotky.  $\gamma$  podjednotka

nie je schopná asociovať s  $\text{Ca}^{2+}$  kanálom v neprítomnosti  $\alpha_1$  podjednotky<sup>34)</sup>. Na rozdiel od  $\beta$  podjednotky, ktorá môže byť asociovaná s rôznymi typmi  $\alpha_1$  podjednotiek, tvorba heteromérických komplexov v prípade  $\gamma$  podjednotiek sa zdá byť limitovaná.  $\gamma_2$  podjednotka napríklad neinteraguje s  $\alpha_1$  podjednotkou kostrového svalu. Okrem toho  $\gamma$  podjednotka nie je nevyhnutná na udržanie integrity kanálu, pretože jej neprítomnosť nijako nenarušuje interakciu medzi ostatnými podjednotkami napätovo riadených  $\text{Ca}^{2+}$  kanálov. Jej hlavná funkcia spočíva v modulácii biofyzikálnych vlastností kanálu<sup>28)</sup>.

#### $\beta$ -podjednotka

Podjednotka  $\beta$  je malý (60 kDa), intracelulárny proteín, ktorý interaguje s intracelulárnou slučkou medzi doménami I a II v  $\alpha_1$  podjednotke. Je jedinou kanálovou podjednotkou, ktorá je kompletne cytozolická<sup>28)</sup>.  $\beta_{1b}$  izoforma a potkania  $\beta_{2a}$  izoforma môžu byť asociované s plazmatickou membránou nezávisle od  $\alpha_1$  podjednotky vďaka prítomnosti kyslých motívov v proteíne<sup>35)</sup>. Štyri rozdielne gény kódujú  $\beta$  podjednotky ( $\beta_1$ – $\beta_4$ ). Všetky štyri gény su exprimované v mozgu. Izoforma  $\beta_1$  podjednotky –  $\beta_{1a}$  je komponentou napätovo riadených kanálov kostrového svalu<sup>36)</sup>. Popri ich expresii v mozgu vykazujú každá  $\beta$  podjednotka rozdielnú expresiu v mnohých iných tkanivách ( $\beta_2$  v srdci, pľúcach, trachei, aorte a  $\beta_3$  v hladkom svale, trachei, pľúcach a aorte). Podjednotka  $\beta$  sa skladá z 5 domén. S  $\alpha_1$  podjednotkou sa spája pomocou tzv. Alpha Interaction domain (AID) v  $\alpha_1$  podjednotke<sup>37)</sup> a korešpondujúcou Beta Interaction Domain (BID) v  $\beta$  podjednotke<sup>38)</sup>.  $\beta$  podjednotka sa podieľa na regulácii vodivosti  $\text{Ca}^{2+}$  kanálu<sup>20, 39)</sup>.

#### $\alpha_2\delta$ podjednotka

Doposiaľ boli popísané 4  $\alpha_2\delta$  podjednotky ( $\alpha_2\delta$ -1 –  $\alpha_2\delta$ -4)<sup>40)</sup>. Každá z nich je rôzne exprimovaná v mozgu, svale a srdci<sup>41)</sup>. Proteín  $\alpha_2\delta$  je produktom jediného génu. Je posttranslačne štiepený na  $\alpha_2$  a  $\delta$  peptid, ktoré sú neskôr spojené disulfidickým mostíkom.  $\alpha_2$  proteín (140 kDa) je extracelulárny, zatiaľ čo  $\delta$  proteín (27 kDa) má jednu transmembránovú doménu s veľmi malou intracelulárnou časťou, ktorá slúži na upevnenie tohto proteínu do plazmatickej membrány<sup>42)</sup>. Aj keď je to  $\delta$  proteín, ktorý je včlenený do membrány, interakcia s  $\alpha_1$  podjednotkou (presnejšie s jej treťou transmembránovou doménou) je sprostredkovaná extracelulárnym  $\alpha_2$  proteínom<sup>43)</sup>. Doposiaľ nebola dokázaná interakcia  $\alpha_2\delta$  podjednotky s  $\beta$  a  $\gamma$  podjednotkou<sup>28)</sup>.  $\alpha_2\delta$  podjednotka je zodpovedná za zvýšený vtok iónov  $\alpha_1$  podjednotkou a za zvýšenú kinetiku aktivácie a inaktivácie  $\text{Ca}^{2+}$  kanálov<sup>44)</sup>.

#### Názvoslovie napätovo riadených $\text{Ca}^{2+}$ kanálov

Okrem alfabetickej (L-, T-, N-, P-, Q-, R-typ) a elektrofyziologickej (HVA, LVA kanály) klasifikácie je možné zaradiť napätovo riadené  $\text{Ca}^{2+}$  kanály i z hľadiska ich štruktúry, presnejšie podľa  $\alpha_1$  podjednotky (tab. 2).  $\alpha_1$  podjednotka je kódovaná najmenej 10 génmi. Každý

Tab. 2. Klasifikácia napätovo riadených vápnikových kanálov podľa  $\alpha_1$  podjednotky (1)

Kanál	Typ $\alpha_1$ podjednotky	Trieda
$\text{Ca}_v1.1$	$\alpha_{1S}$	L-typ
$\text{Ca}_v1.2$	$\alpha_{1C}$	L-typ
$\text{Ca}_v1.3$	$\alpha_{1D}$	L-typ
$\text{Ca}_v1.4$	$\alpha_{1F}$	L-typ
$\text{Ca}_v2.1$	$\alpha_{1A}$	P/Q-typ
$\text{Ca}_v2.2$	$\alpha_{1B}$	N-typ
$\text{Ca}_v2.3$	$\alpha_{1E}$	R-typ
$\text{Ca}_v3.1$	$\alpha_{1G}$	T-typ
$\text{Ca}_v3.2$	$\alpha_{1H}$	T-typ
$\text{Ca}_v3.3$	$\alpha_{1I}$	T-typ

produkt týchto génov dostal pomenovanie, čo spôsobilo chyby a nejasnosti v názvosloví. V roku 1994 uzrelo svetlo sveta prvé názvoslovie, v ktorom bola pôvodná izoforma  $\alpha_1$  podjednotky kostrového svalu nazvaná ako  $\alpha_{1S}$  a tie neskôr objavené dostali pomenovanie  $\alpha_{1A}$  až  $\alpha_{1E}$ <sup>45)</sup>. V roku 2000 bolo prijaté nové názvoslovie, ktoré sa inšpirovalo názvoslovím draslíkových kanálov a ktoré rešpektuje molekulárne a štruktúrne charakteristiky jednotlivých kanálov<sup>46)</sup>. Kalciové kanály boli nazvané podľa chemického symbolu permeujúceho iónu (Ca). Keďže sú napätovo riadené, v názve sa nachádza písmeno v (voltage). Číslo zodpovedá  $\alpha_1$  podjednotke, pričom prvé sa vzťahuje na skupinu génov kódujúcu túto podjednotku (do dnešných dní sú známe 3 skupiny) a druhé na poradie, v ktorom boli tieto  $\alpha_1$  podjednotky objavené v rámci skupiny (1 až n). Rozoznávame 3 základné skupiny:  $\text{Ca}_v1$ ,  $\text{Ca}_v2$ ,  $\text{Ca}_v3$ <sup>12, 25)</sup>.

$\text{Ca}_v1$  skupina ( $\text{Ca}_v1.1$  až  $\text{Ca}_v1.4$ ) zodpovedá vysokovoltážnemu L-typu. Zahŕňa kanály s  $\alpha_{1S}$ ,  $\alpha_{1C}$ ,  $\alpha_{1D}$  a  $\alpha_{1F}$  podjednotkou.

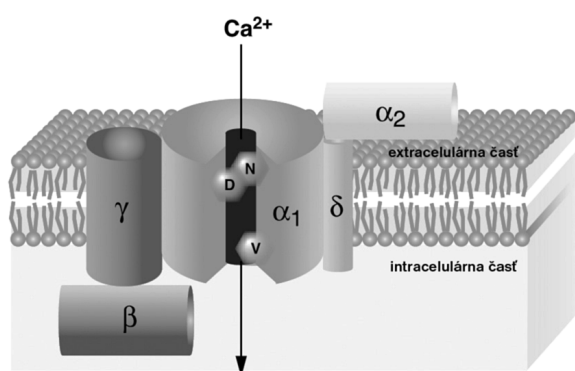
$\text{Ca}_v2$  skupina ( $\text{Ca}_v2.1$  až  $\text{Ca}_v2.3$ ) zahŕňa kanály obsahujúce  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$  a  $\alpha_{1E}$  podjednotky a zodpovedá P/Q-, R- a N-typu kanálov.

Kanály obsahujúce  $\alpha_{1G}$ ,  $\alpha_{1H}$  a  $\alpha_{1I}$  podjednotky patria do skupiny  $\text{Ca}_v3$  ( $\text{Ca}_v3.1$  až  $\text{Ca}_v3.3$ ) a zodpovedajú T-typu kanálov.

#### Stručná charakteristika farmakológie $\text{Ca}^{2+}$ kanálov

Farmakológia týchto troch skupín  $\text{Ca}^{2+}$  kanálov je odlišná.  $\text{Ca}_v1$  kanály (L-typ) sú blokované skupinou antagonistov vápnikových kanálov, ktorej hlavnými predstaviteľmi sú dihydropyridíny (nifedipín a jeho analógy), fenylalkylamínový derivát verapamil a benzothiazepínový derivát diltiazem. Aj keď všetky tri prototypy uvedených selektívnych blokátorov vápnikových kanálov interagujú s  $\alpha_1$  podjednotkou L-typu  $\text{Ca}^{2+}$  kanálu, každý sa viaže na odlišné receptorové miesto (obr. 3). Medzi týmito aktívnymi miestami existuje komplexný allosterický vzťah<sup>47)</sup>. Napr. väzba liečiva na dihydropyridínovom mieste zväčšuje afinitu diltiazemu na benzothiazepínovom mieste a naopak. Oproti tomu väzba verapamilu na fenylalkylamínovom mieste redukuje afinitu diltiazemu a nifedipínu voči ich príslušným väzbovým miestam. Pomocou biochemických experimentov a metód molekulovej biológie bol dihydropyridínový





Obr. 3. Schematické znázornenie L-typu kanálu spolu s naznačenými väzbovými miestami pre nifedipín (N), diltiazem (D) a verapamil (V)<sup>31</sup>

receptor lokalizovaný do špecifickej oblasti hlavnej  $\alpha_1$  podjednotky, konkrétne k segmentom III S5, III S6 a IV S6 (a ich extracelulárnym slučkám)<sup>1)</sup>. Diltiazem a verapamil sa viažu blízko domény IV, na oblasť pri otvore kanálu (prvý na extracelulárnej, druhý na intracelulárnej strane kanálu)<sup>48)</sup>.

$\text{Ca}_v2$  skupina nie je citlivá voči dihydropyridíovým blokátormi, ale je selektívne blokováná peptidickými toxínmi z hadov a morských slimákov<sup>49)</sup>.  $\text{Ca}_v2.1$  kanál je blokovávaný  $\omega$ -agatoxínom IVA z pavúčieho jedu,  $\text{Ca}_v2.2w$ -conotoxínom GVIA z jedu morských slimákov<sup>50, 51)</sup>.

$\text{Ca}_v2.3$  kanály sú blokovévané syntetickým peptidickým toxínom SNX-482 odvodeného od jedu tarantule. Tieto peptidické toxíny sú potenciálnymi blokátormi synaptického transmissie.

$\text{Ca}_v3$  skupina kanálov je necitlivá voči dihydropyridínom (blokátory  $\text{Ca}_v1$ ) i peptidickým toxínom (blokátory  $\text{Ca}_v2$ ) a v súčasnosti nie je známy žiadny selektívny blokátor s vysokou afinitou<sup>52)</sup>. Vývoj tejto skupiny blokátorov by mohol byť užitočný pre terapiu a detailnejšiu analýzu ich úloh v organizme<sup>12)</sup>.

Práca bola realizovaná v rámci grantového projektu I/4298/07 VEGA Ministerstva školstva SR a grantu UK 45/2007.

## LITERATÚRA

1. **Triggle, D. J.:** Calcium Channel Pharmacology. S.I. McDough, Kluwer Academic/Plenum Publishers, Norwell, 2004, kapitola 3.
2. **Bootman, M. D. et al.:** Semin. Cell Dev. Biol., 2001; 12, 3-10.
3. **Campbell, N. A., Reece, J. B.:** Biologie. Computer Press, a.s., Brno, 2006, s. 1332.
4. **Albert, B. et al.:** Základy buněčné biologie. Espero Publishing, Ústí nad Labem, 1998, s. 386.
5. **Triggle, D. J.:** Mini-Rev. Med. Chem., 2003; 3, 215-223.
6. **Stotz, S. C. et al.:** J. Physiol., 2003; 554, 263-273.
7. **Yamamoto, T. et al.:** Bioorg. Med. Chem. Lett., 2006; 16, 798-802.
8. **Vennekens, R. et al.:** Cell Calcium, 2002; 31, 253-254.
9. **Weiss, N. et al.:** Med. Sci., 2007; 23, 53-63.
10. **Almers W., Mc Cleskey E.W.:** J. Physiol., 1984; 353, 585-608.
11. **Yamakage, M., Namiki A.:** Can. J. Anesth., 2002; 49, 151-164.
12. **Catterall, W. A. et al.:** Pharmacol. Rev., 2005; 57, 411-425.
13. **Jones, O. T.:** Eur. J. Pharmacol., 2002; 447, 211-225.
14. **Josephson, I. R. et al.:** Biophys. J., 2002; 83, 2575-2586.
15. **Stotz, S.C. et al.:** J. Physiol., 2003; 554, 263-273.
16. **Livneh, A., Cohen, R., Atlas, D.:** Neuroscience, 2006; 139, 1275-1287.
17. **Jimenez, C. et al.:** Neuropharmacol., 2000; 39, 1-10.
18. **Stotz, S. C., Zamponi, G. W.:** Trends Neurosci., 2003; 24 (3), 176-181.
19. **Zhang, J. F. et al.:** Nature, 1994; 372, 97-100.
20. **Sokolov, S. et al.:** J. Physiol., 2000; 527, 445-454.
21. **Liang, H. et al.:** Neuron, 2003; 39, 951-960.
22. **Klemic, K. G. et al.:** Biophys. J., 1998; 74, 1779-1789.
23. **Yu, F. H., Catterall, W. A.:** Sci. STKE, 2004; 253, 15.
24. **Catterall, W. A.:** Annu Rev. Biochem., 1995; 64, 493-531.
25. **Triggle, D. J.:** Drug Dev. Res., 2003; 58, 5-17.
26. **Furukawa, T. et al.:** J. Pharmacol. Exp. Ther., 1999; 291, 464-473.
27. **Catterall, W. A.:** Annu. Rev. Cell. Dev. Biol., 2000; 16, 521-555.
28. **Arikkath, J. et al.:** Curr. Opin. Neurobiol., 2003; 13, 298-307.
29. **Yu, F. H. et al.:** Pharmacol. Rev., 2005; 57, 387-391.
30. **Mitterdorfer, J. et al.:** J. Bioenerg. Biomembr., 1998; 30, 319-334.
31. **Schubert-Zsilavec, M., Stark, H.:** Pharm. Unserer Zeit., 2005; 34, 374-379.
32. **Jay, S.D. et al.:** Science, 1990; 248, 490-492.
33. **Letts, E. et al.:** Nat. Genet., 1998; 19, 340-347.
34. **Arikkath, J. et al.:** J. Biol. Chem., 2003; 278, 1212-1219.
35. **Chien, A.J. et al.:** J. Biol. Chem., 1998; 273, 23590-23597.
36. **Bogdanov, Y. et al.:** Eur. J. Neurosci., 2000; 12, 894-902.
37. **Pragnell, M. et al.:** Nature, 1994; 368, 67-70.
38. **De Waard, M. et al.:** Neuron, 1994; 13, 495-503.
39. **Bichet, D. et al.:** Neuron, 2000; 25, 177-190.
40. **Qin, N. et al.:** Mol. Pharmacol., 2004; 62, 485-496.
41. **Klugbauer, N. et al.:** J. Neurosci., 1999; 34, 684-691.
42. **Gurnett, C.A., De Waard, M., Campbell, K.P.:** Neuron, 1996; 16, 431-440.
43. **Gurnett, C. A., Felix, R., Campbell, K. P.:** J. Biol. Chem., 1997; 272, 18508-18512.
44. **Felix, R. et al.:** J. Neurosci., 1997; 17, 6884-6891.
45. **Birnbaumer, L. et al.:** Neuron, 1994; 13, 505-506.
46. **Ertel, E. A. et al.:** Neuron, 2000; 25, 533-535.
47. **Glossman, H., Striessnig, J.:** Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol., 1990; 114, 1-105.
48. **Lüllmann, H.:** Farmakologie a toxikologie. Grada, Praha, 2002, 147.
49. **Miljanich, G. P., Ramachandran, J.:** Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 1995; 35, 707-734.
50. **Letter to the Editor:** Neuron, 2000; 25, 533-535.
51. **McDonough, S. I. et al.:** Biophys. J., 1997; 72, 2117-2128.
52. **Perez-Reyes, E.:** Physiol. Rev., 2003, 83, 117-161.