



Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalları ve Moleküller Özellikleri Voltage-Gated Calcium Channels and Molecular Features

Mustafa Emre

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Adana, Turkey

ABSTRACT

Electrobiophysical records obtained from cells such as neuron, muscle and endocrine have revealed that there are calcium (Ca²⁺) currents with distinctive characteristics which can be activated by voltage. Calcium channels have been categorized as low voltage-activated Ca²⁺ channels (LVA), low-threshold calcium channels and high-voltage activated calcium channels (HVA), high-threshold calcium channels in terms of calcium channels activation. Voltage-gated calcium channels have been classified with respect to their activation and inactivation kinetics, ion characteristics, the permeability and their sensitivity to drug and the toxin. Voltage-dependent calcium channels have different distributions in the tissues and show different characteristics in different tissues. In this review, the available information about voltage-gated calcium channels have been summarized.

Key words: Calcium channels, subfamilies, properties.

Öz

Nöron, kas ve endokrin gibi hücrelerden elde edilen elektrobiyofizik kayıtlar, belirgin karakteristiklere sahip ve voltajla aktive edilebilen kalsiyum (Ca²⁺) akımların olduğunu ortaya koymuştur. Kalsiyum kanalları aktivasyon durumlarına göre düşük voltajla aktive olan (LVA), düşük eşikli kalsiyum kanallar ve yüksek voltajla aktive olan (HVA), yüksek eşikli kalsiyum kanalları olarak kategorize edilmiştir. Voltaj kapılı kalsiyum kanalları; aktivasyon ve inaktivasyon kinetiklerine, iyon özelliklerine, geçirgenliklerine, ilaç ve toksinlere olan duyarlıklarına göre sınıflandırılmışlar. Voltaj bağımlı kalsiyum kanalların dokulardaki dağılımları farklı olup, değişik dokularda değişik karakteristikler gösterirler. Bu derlemede, voltaj kapılı kalsiyum kanallarıyla ilgili mevcut bilgiler özetlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kalsiyum kanalları, alt aile.



Giriş

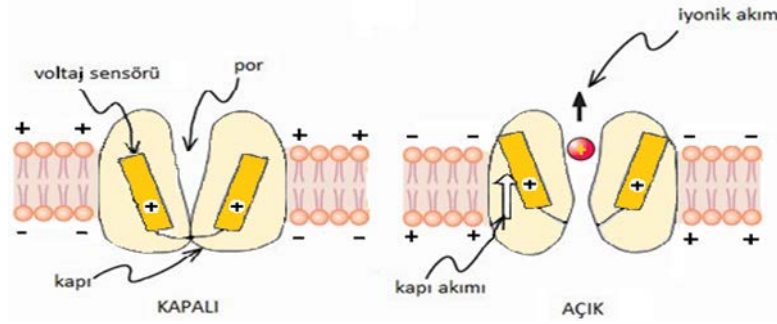
Kalsiyum, canlı hücrelerin fonksiyon ve yapılarını sürdürebilmeleri için gerekli bir iyondur. İskelet ve damar düz kasının kasılması/gevşemesi, hücre zarının uyarılabilirliği, transmitterlerin salınışı, hücre bölünmesi, hücre motilite, hormon sekresyonu, metabolizma, nöronal iletim, hücre sinyalizasyonu, protein döngüsü, gen ekspresyonu, gelişim ve programlı hücre ölümü (apoptoz) gibi süreçlerde kalsiyumun işlevsel açıdan önemli bir modülatör olduğu bilinmektedir. İyon kanalları, iyonların geçişini düzenleyerek sinir ve kas gibi hücrelerde dinlenme zar potansiyelinin hızlı değişimi ve aksiyon potansiyelinin oluşumuna aracılık eder. Kalsiyum kanalları, Ca^{2+} akımını düzenleyerek hücre içi metabolik olayları regüle ederler. Voltaj geçişli Ca^{2+} kanalları, Na^{+} ve K^{+} kanallarını da içeren voltaj kapılı iyon kanallarının çok önemli bir üyesidir. Elektrobiyofizik ve farmakolojik araştırmalarla çeşitli hücre tiplerinde farklı tiplerde kalsiyum kanalları tanımlanmış ve moleküler klonlama teknikleri kullanılarak kanalların alt birimlerini kodlayan gen lokasyonları ortaya konulmuştur¹.

Tipik olarak, Ca^{2+} kanalları, hücre zarı dinlenme durumundan depolarize duruma geçince bir veya birkaç milisaniye içinde açılır ve repolarizasyonu takiben milisaniyenin bir kesri içinde kapanır. Voltaj kapılı Ca^{2+} kanallarının Ca^{2+} iyonları için seçiciliği son derece yüksektir. Tek bir açık Ca^{2+} kanalı yoluyla Ca^{2+} 'nin geçirgenliği, elektrokimyasal gradyan büyük olduğunda saniye başına milyonlarca iyon oranına ulaşabilmektedir².

Voltaj-Kapılı Ca^{2+} Kanalının Genel Özellikleri

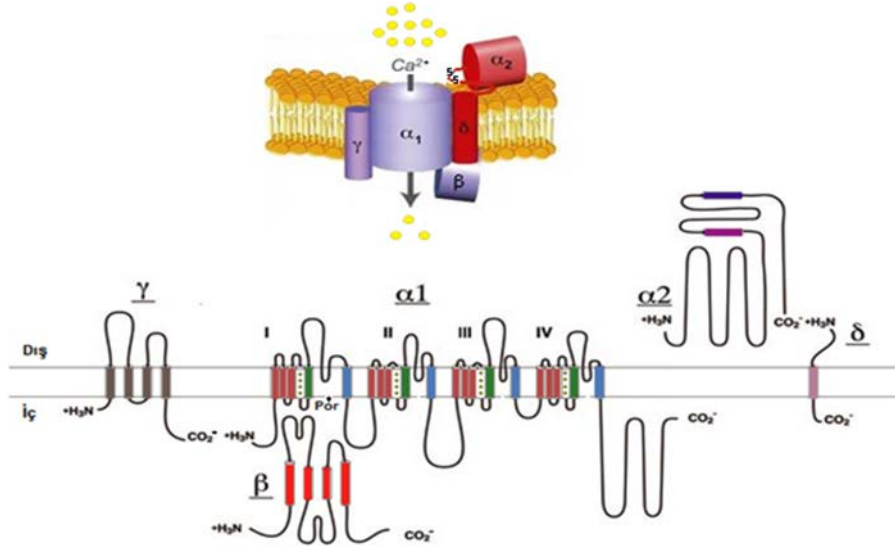
Voltaj geçişli kalsiyum kanalları (VGKK) birçok omurgasız kasları ve omurgalıların düz kaslarında voltaj kapılı depolarizasyonun hemen hemen tamamından sorumludur. Ayrıca, omurgalıların kalp kası aksiyon potansiyelinin plato fazı boyunca depolarizasyonunu sağlamakla görevlidirler. Birçok kas, salgı hücresi ve sinir terminallerinde kalsiyum iyon konsantrasyonunu kontrol etmekte de büyük öneme sahiptirler. Sekonder haberci oldukları için, kalsiyum iyonlarının hücre zar potansiyelini etkileyebilecek başka hücre içi denetleme mekanizmalarını da kontrol etme özelliğine sahiptirler². Voltaj kapılı Na^{+} , K^{+} , Ca^{2+} kanalları benzer yapılara sahip oldukları düşünülmektedir. Voltaj kapılı kanallar, dört alt üniteye veya kovalen bağlı dört bölgeye sahiptirler. Her alt ünite veya bölge, altı adet transmembran segment içermektedir. Amino grup ve karboksil terminaler hücre zarının intrasellüler kısmında bulunmaktadır (Şekil 2.). S1-S4 bir voltaj sensörünü, S5-S6 arasındaki P ilmeği por denilen kapı kısmını oluşturmaktadır. P ilmeği, seçici filtreyi oluşturan bir polipeptit zincirini içermektedir¹. Por ile voltaj sensör kısmının fonksiyonel olarak birbirleriyle bağıntılı olduğu sanılmaktadır; zar

depolarize olduğunda sensör kısmının hareketlenerek por kısmına sinyal gönderdiği ve bunun sonucunda kanal kapısının açıldığı bildirilmiştir (Şekil 1.)^{2,3}.



Şekil 1. Voltaj kapılı kalsiyum iyon kanalının açılıp kapanması.

Voltaj kapılı kalsiyum kanalları, çoklu genler tarafından kodlanan dört ya da beş alt üniteye sahip protein kompleksleridir. VGKK'nin por (gözenek) oluşturan altbirimi için sadece 10 gen vardır. İskelet kası transvers tübüllerinden biyokimyasal tekniklerle izole edilen voltaj kapılı kalsiyum kanalı, $\alpha 1$, $\alpha 2$, β , δ ve γ diye bilinen alt birimlerden oluşur. Her alt birim o zamandan beri çeşitli biçimlerde klonlanmıştır³⁻⁶. 200-250 kDa olan $\alpha 1$ alt ünitesi, geçiş poru, voltaj sensörü ve kapı aparatını içeren en büyük alt üniteye sahiptir. $\alpha 1$ alt ünitesi, ikincil haberciler, ilaçlar ve toksinler tarafından kanalın etkilendiği yer olup, her biri altı transmembran segmente sahip (S1-S6) dört homolog bölgeden oluşmaktadır. S4 segmenti voltaj sensörü olarak görev yapar⁷. S5 ve S6 transmembran segmentleri arasındaki por ilmeği, iyon iletkenliğini ve seçiciliğini belirlemektedir. İntrasellüler periferik zar proteini olan β alt ünitesi ve glikoprotein olan $\alpha 2$ alt ünitesinin disülfid bağı ile δ alt ünitesine bağlandığı $\alpha 2 \delta$ alt ünite kompleksi kalsiyum kanallarında en çok görülen bileşenlerdir (Şekil.2 ve Şekil 4). γ alt ünitesi, daha çok iskelet kası kalsiyum kanallarında bulunmaktadır. Bu yardımcı alt üniteler, kanal kompleksinin özelliklerini değiştirmelerine rağmen, kalsiyum kanallarının elektrobiyofizik ve farmakolojik çeşitliliği, çoklu $\alpha 1$ alt ünitesinden kaynaklanmaktadır^{1,6}. Hepsinin biyofiziksel ve farmakolojik özellikleri ve fonksiyonları farklıdır. Belirleyici olan kanalı oluşturan $\alpha 1$ alt ünitesidir. Ca^{2+} kanallarının güçlü işlevsel yetenekleri, moleküler mimarisinden kaynaklanmaktadır. Yapısal olarak büyük bir makro moleküler kompleks oluşturan ve çoklu genler tarafından kodlanan VGKK, geniş bir $\alpha 1$ ana alt birimi ile yanında yardımcı $\alpha 2$, β , γ ve δ alt birimlerini içeren zar bağlantılı proteinden oluşur (Şekil.2)^{8,9}.



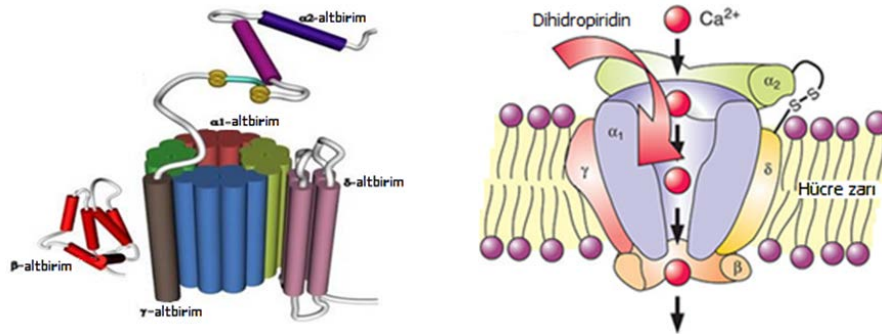
Şekil 2. Voltaj-kapılı kalsiyum kanalı (Cav1), büyük bir makromoleküler kompleks oluşturmak için α_1 alt birimi ile bir araya gelen β , α_2 , δ ve γ diye bilinen alt birimleri içerir¹

α_1 : α_1 alt birimi kendi başına bir fonksiyonel Ca^{2+} kanalı oluşturabileceği için, diğer alt birimlere de yardımcı alt birimler denir. α_1 alt birimi kanal özelliklerinin temel belirleyicisidir. α_1 alt biriminin yardımcı alt birimlerle çeşitli biçimlerde birleşmesinden, inanılmaz derecede kanal çeşitliliği oluşmaktadır. Tüm α_1 alt üniteler Na^+ kanallarının α_1 alt üniteleri ile homologdur. Ca^{2+} kanal türlerinin çoğunun çeşitliliği, moleküler klonlama ile izole edilen α_1 alt biriminin birden fazla formu ekspresyonlarda ortaya çıkarılmıştır¹⁰⁻¹⁵. α_1 alt birimi bazı kalsiyum antagonistleri için önemli fosforilasyon ve bağlama yerleri içerir. Ca^{2+} kanallarının özellikle α_1 alt biriminin zar geçiş bölgelerinin % 55'i Na kanallarına benzemektedir. Bu nedenle bazı ilaçlar Na kanallarının ve L-tipi kanalların her ikisi ne de afinite gösterebilir. İskelet kası α_1 alt birim (212kDa) kardiyak formdan (242kDa) daha küçük olup farklı bir genden şifrelenmiştir. İskelet kası α_1 alt birim ryanodine duyarlı sarkoplazmik redikulumdan Ca^{2+} salıveren kanal için voltaja duyarlı rol oynar ve kardiyak kasının alt birimden farklı özelliklere sahiptir¹⁶.

Voltaj-Kapılı Kalsiyum Kanallarının Yardımcı Alt Birimleri

β : β -alt biriminin yapısı Ruth ve ark. tarafından tanımlanmıştır¹⁷. Kanala aktivasyon ve inaktivasyon oranını artırdığı ve α_1 alt biriminde de DHP bağlanmasını değiştirdiği

gösterilmiştir¹⁸. β -alt birimi α_1 alt birimi ile birlikte kanal akımını önemli derecede artırabilir¹⁹. Hücre zarının sitoplazmik yüzeyi ile bağlantılı periferik membran proteinleri olan β -alt birimleri yaklaşık 55-60 kDa molekül ağırlığına sahiptirler²⁰. Yüksek voltajda aktive olan Ca^{2+} kanallarının doğal yapısında yer alan yardımcı β -alt birimler, birkaç önemli ve ilginç fonksiyona hizmet ederler: 1. Ca^{2+} kanal alt birim kompleksinin doğru hedeflenmesinde önemli bir rol oynarlar, 2. protein kinazlar tarafından regülasyona tabi tutulmaları ve 3. α_1 alt birimlerinin kapı açma ve farmakolojik özelliklerinin modülatörleri olarak görev yaparlar.



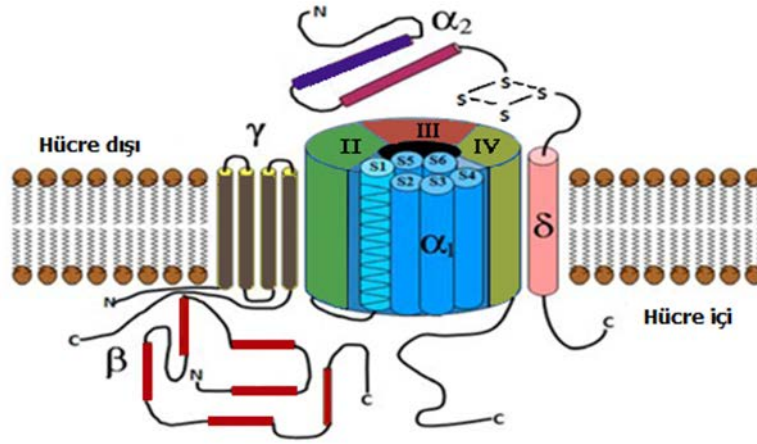
Şekil 3. Bir voltaj kapılı kalsiyum kanalının alt birimlerinin artistik görünümü ve L-tipi Ca^{2+} kanalında dihidropiridin bağlandığı yer (α_1).

Memelilerde dört farklı β alt biriminin varlığı saptanmış olup, bunlar β_1 , β_2 , β_3 ve β_4 olarak tanımlanmışlar. Bu sitoplazmik proteinlerin çeşitliliği, artan harfler şeklinde, β_2a , β_2b vb. ile gösterilmektedir. Genel olarak, β alt birimleri yalnızca bir organ veya dokuda bulunmaz. β_1 transkriptleri ilk olarak iskelet kasında daha sonra beyinde eksprese edilmiştir. β_2 ağırlıklı olarak kalp, aorta ve beyinde eksprese edilirken, β_3 en bol beyinde olmakla birlikte aort, trakea, akciğer, kalp ve iskelet kasında da eksprese edilmiştir. β_4 nöronal dokularda özellikle beyincikte en yüksek oranda eksprese edilmiştir. β_4 alt birimlerinin her biri α_1 alt birimlerinin her biriyle ortak olabileceği için, β alt birim heterojenitesi Ca^{2+} -kanallarının çeşitliliğine çarpıcı bir şekilde katkıda bulunabilir, ancak β alt birim farklılıklarının L,N ve P/Q gibi büyük sınıflar arasındaki farklardan sorumlu olma ihtimali düşük gibi görünmektedir²¹.

$\alpha_2 \delta$: Hücre dışı yardımcı $\alpha_2 \delta$ alt birimi (175 kDa), tek bir ebeveynin post-translasyonel işleme ile türetilen ve disülfür bağı ile birbirine bağlı glikozile edilmiş α_2 ve δ proteinlerinden oluşan bir dimerdir. Bu alt birim çifti, kanaldan Ca^{2+} geçişlerini büyük ölçüde etkilediği gösterilmiştir²²⁻²⁴. Bir glikoprotein olan α_2 alt ünitesinin disülfür bağı ile δ alt ünitesine bağlandığı $\alpha_2 \delta$ alt ünite

kompleksi kalsiyum kanallarında en çok görülen bileşenleridir (Şekil.4). VGKK'nın $\alpha\delta$ alt-birimine karşı kimyasal veya farmakolojik ajanların yüksek afinitesi vardır. $\alpha\delta$ -1 ve $\alpha\delta$ -2'nin geniş doku dağılımı bulunurken, $\alpha\delta$ -3 sadece beyin dokusuna spesifiktir. $\alpha\delta$ 'nin alt birimleri ve çeşitliliği ile ilgili bilgiler, β alt birimlerine oranla daha az sayıda bulunmaktadır²⁴.

γ : Gama alt birimi 222 aminoasitli olup ilk defa iskelet kasından izole edilmiştir. Voltaj-kapılı kalsiyum kanalının γ olarak bilinen beşinci alt birimi 25-38 kDa molekül ağırlığa sahip olup 4 transmembran alana sahiptir²⁵⁻²⁷. γ alt birimi hakkında az bilgi bilinmekle beraber $\alpha\delta$ alt ünitelerinde olduğu gibi, γ alt birimi de yaygın bir şekilde ilgi görmeye başlamıştır. Kanal inaktivasyonunu arttırdığı gösterilmiştir^{26,28}.

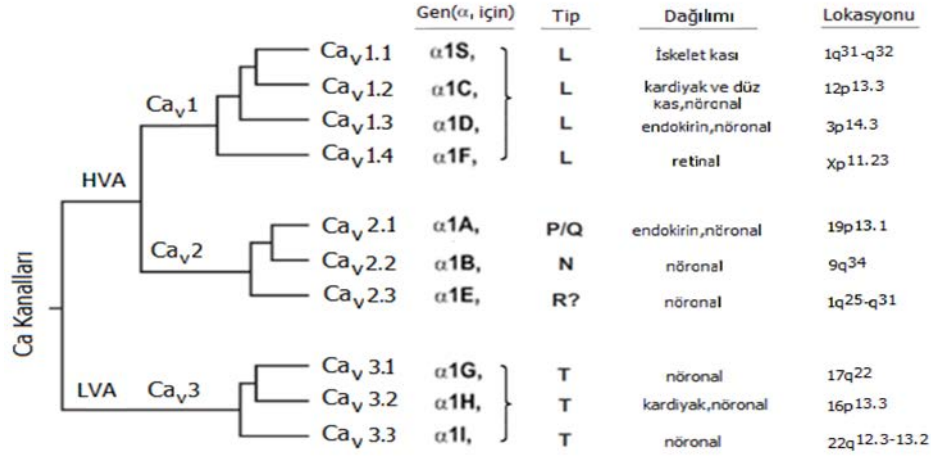


Şekil.4 Voltaj geçişli kalsiyum kanalı, hücre zarında büyük bir makromoleküler kompleks oluşturmak için α 1 alt birimi ile bir araya gelen β , α 2, δ ve γ diye bilinen alt birimler içerir²⁹.

Voltaj-Kapılı Ca^{2+} Kanallarının Biyofizik, Farmakoloji ve Moleküler Biyoloji Özelliklerine Göre Sınıflandırılması

Voltaj-kapılı Ca^{2+} kanalları (VGKK), ilk kez Reuter tarafından purkinje liflerinde yaptığı çalışmada tanımlanmıştır³⁰. Voltaj kapılı Ca^{2+} kanallarının tipi; kanal kapı aparatı, kanal iletkenliği, aktivasyon voltaj ve zaman bağımlılığı gibi kriterler ile ayırt edilirlerdi³¹. Voltaj kapılı Ca^{2+} kanalları bazen düşük voltajla aktive edilmiş (LVA) ve yüksek voltajla aktive edilmiş (HVA) olmak üzere iki gruba ayrılmıştı. Daha sonra kanallar kanal kapı aparatı, kanal iletkenliği, voltaj ve zaman bağımlılığı, iyon özelliklerine, iletimlerine, hücresel dağılımına, ilaç ve toksinlere

duyarlığına, aktivasyon ve inaktivasyon kinetikleri gibi tüm kriterler göz önüne alınarak elektrobiyofizik ve farmakolojik olarak farklı adlarda voltaj-kapılı Ca^{2+} kanalları tanımlanmıştır. Bunlar en genel sınıflandırmayla, L-tipi (uzun süreli), T-tipi (kısa süreli), N-tipi (sinirsel), P/Q ve R tipi olarak adlandırılmıştır^{32,33}.



Şekil 5. Voltaj kapılı Ca^{2+} kanallarının evrimleşme aile ağacı. Evrimleşen aile ağacı, insanda bulunan Ca^{2+} kanallarının hücre membranını kapsayan bölgelerin ve gözenek halkalarının hizalanmasına dayanır. Düşük voltajla aktive edilmiş (LVA) Ca^{2+} kanalları (8-12 pS) Cav3 (T-tipi), yüksek voltajla aktive edilmiş (HVA) Ca^{2+} kanalları (15-27 pS) Cav1(L-tipi) ve Cav2 (N,P,Q and R-tipi) kanalı olarak sınıflandırılır.

L, T, N, P/Q ve R voltaj kapılı Ca^{++} kanal tiplerinin biyofiziksel, farmakolojik özellikleri ve işlevleri farklıdır. Belirleyici olan kanalı oluşturan $\alpha 1$ alt ünitesidir. Bu alt üniteyi yapan bir gen ailesi vardır (Tablo1, şekil.3). Bu kanalların voltaja, farmakolojik ajanlara karşı duyarlılıkları ve işlevleri farklıdır. L, N, R ve P/Q, tipi kanalların aktivasyonu, için kuvvetli depolarizasyon gerek (-40 veya -20 mV'a getirebilen), bu nedenle bunlara yüksek voltaj ile uyarılabilen kanallar deniyor. T-tipi kanallar daha küçük depolarizasyonlar ile (-60 veya -40 mV'a getirebilen) aktive olabiliyorlar ve bu nedenle dinlenme potansiyelindeki küçük sapmalara duyarlılar ve özellikle bazı hücrelerde (kalb ve beyin) ritmik "pacemaker" aktivitesinde rolleri var. Nöronlarda P/Q, N ve R tipi kanallar geleneksel transmitterlerin hızlı salınmasından sorumlu. L tipi kanallar ise nöronlardan nöropeptidlerin, endokrin bezlerden de hormonların daha yavaş salınması ile ilgilidir³⁷. İyon kanalları her biri farklı bir gen tarafından kodlanan farklı alt birimlerden oluşur.

Voltaj kapılı Ca^{2+} kanallarının α_1 -alt birimini kodlayan en az 10 gen vardır (Şekil.5).

α_1 alt birimi dizi homolojisi bakımından üç büyük aileye sahiptir. α_1' in ilk alt ailesi (α_{11}) de 4 α_1 üyeden oluşur. Bunlar sırasıyla; İskelet kasında bulunan $\alpha_{11.1}$ (α_{1S}), kalp kasında $\alpha_{11.2}$ (α_{1C}), nöroendokrin dokularda $\alpha_{11.3}$ (α_{1D}) ve retinada $\alpha_{11.4}$ (α_{1F}) α_1 alt biriminin farklı izoformlarının olduğu gösterilmiştir³⁸⁻⁴⁰.

Tablo 1. Voltaj kapılı kalsiyum kanallarının sınıflandırılması^{29,33-36}.

Tip	Gen(α_1 için)	Özellik ve Seçici Blokerler	Aktivasyon Pot. (mV)	İletkenlik (pS)	Doku lokasyonu / İşlev
L-tip (Cav1)	α_{1S}, α_{1C} α_{1D}, α_{1F}	Yüksek voltaj ile aktive olur. Dihidropiridin ile bloke olur.	-10 ile -50	27	Endokrin, nöron, düz kas, iskelet kası hücreleri; Uyarılma-kasılma
P/Q-tip (Cav2.1)	α_{1A}	Yüksek voltaj ile aktive olur. ω -agatoksin (örümcek zehiri) ile bloke olur.	-50	9-20	Sinir uçları, nöroendokrin hücreler; transmitter ve hormon salınımı.
N-tip (Cav2.2)	α_{1B}	Yüksek voltaj ile aktive olur. ω -konotoksin (salyangoz zehiri) ile bloke olur.	-20	11-20	Sinir uçları, nöroendokrin hücreler; transmitter ve hormon salınımı.
R-tip (Cav2.3)	α_{1E}	Yüksek voltaj ile aktive olur. Kadmium, SNX-482(Bir tür örümcek zehiri) ile bloke olur.	-20 ile -40	15-20	Nöronal hücre, dendrit; tekrarlayan ateş, dendritik Ca^{+2} geçişi
T-tip (Cav3)	$\alpha_{1G}, \alpha_{1H}, \alpha_{1I}$	Düşük voltaj ile aktive olur. Oktanol ile bloke olur.	-70	8	Kalp ve nöronlarda pacemaker aktivite için önemlidir.

CaV1 / L-Tipi Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalı

Özellikle dihidropiridine duyarlı olan L-tipi voltaj kapılı kalsiyum kanalları, moleküler genetik

araştırmalarında yüksek afiniteli ilaçların varlığından dolayı çok iyi tanımlanmışlardır. Dihidropiridinler, L-tipi kanalın alfa alt birimine bağlanırlar. L-tipi voltaj kapılı kalsiyum kanallara dihidropiridinlerin bağlanması için iki değerli katyonlara ihtiyaç vardır. Dihidropiridinlerin bağlanma derecesi sıcaklık, doku çeşitliği ve pH ile değişmektedir.

Yapısal olarak CaV1/L-tipi kalsiyum kanallarındaki dört bağlanma yeri için dört tip major kalsiyum kanal blokri tanımlanmıştır: yüksek voltaj ile aktive olan, dihidropiridin (nifedipin, nikardipin, isradipin, amlodipin, felodipin,vb), fenilalkilamin (verapamil, gallopamil,vb), benzodiazepin (diltiazem) ve diğerlerine (Flunarazin, sinnarazin ve lidoflazin) duyarlı Ca+2 kanallarıdır⁴¹⁻⁴³. 20 - 27 pS arasında değerren bir iletkenliğe sahip olan L-tipi kanallar; kalp kası, periferel nöronlar ve iskelet kas hücrelerinde yoğun şekilde bulunurlar. İskelet ve kalpteki kanal proteinlerinin yapısal benzerliği bulunmasına rağmen, aktivasyon kinetiklerinde, iletkenliklerinde, Mg+2 ve organik katyonlara geçirgenliklerinde önemli farklılıklar bulunmaktadır⁴⁴. L-tipi kanallar, kalp, vasküler düz kas ve uterus gibi birçok çeşitli düz kasın kasılmasında, endokrin hücre ve duyuşal nöronlardan transmitter salımının kontrolünde rol oynamaktadırlar⁴⁵. L-tipi kanallar, verapamil ve diltiazem gibi kalsiyum kanal antagonisti ilaçların ana hedefidir. Endojen bileşiklere de yanıt vermektedirler⁴⁶. Birçok hücrede, katekolaminlerin cAMP bağımlı protein fosforilasyonu yolunu aktive etmesiyle dzenlenmektedirler⁴⁷.

CaV2.1 P/Q-Tipi Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalı

P/Q-tipi kanallar, sinir sistemi, hipofiz ve serebellar purkinje hücrelerinde tanımlandığı halde, iskelet kası, mide ve böbrek gibi dokularda saptanamamıştır. Xenopus oositlerinde eksprese edilen CaV2.1 kanallar, ysek voltaj ile aktive olmaktadır ve DHP'e veya ω -konotoksin (ω -CgTx) e dirençli oldukları gösterilmiştir. Düşük molekül ağırlıklı toksinlerle özellikle de Huni ağlı örümcek venomdan elde edilen toksin ile bloke olmaktadır. Beyindeki kalsiyum kanallarının birçoğu bu tip kanallardır. Huni ağlı (Funnel web) bir örümcek türünün zehiri ile (ω -agatoksin) nöromusküler geçişi bloke edildiği bulunmuřtur⁴⁸⁻⁵⁰.

CaV2.2 / N-Tipi Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalı

Güçlü depolarizasyon ile aktive edilen N-tipi VGKK'ler, ancak dihidropiridinlere (DHP) dirençli olmasından dolayı L-tipi kanallarından farklıdırlar. CaV2.2/N-tipi kanalların aktif bölgelerde lokalizasyonu floresan işaretli ω -konotoksin ile gösterilmiş. L-tipi kanallar ise, daha yavaş etki gösterdikleri için aktif bölgelerde bulunmuyor. Kk bir aile olan konotoksinler 13-29 arasında değerren amino acitten oluşurlar. Bir tür marina zehiri (salyangoz zehiri) olan ω -konotoksin (27-

amino acid) ile bloke olan N-tipi kanallar, öncelikle presinaptik sinir terminallerinde, nöronal dendritlerde ve nöroendokrin hücrelerde bulunmakta olup sinir uçlarının depolarizasyonu sonucunda nörotransmitter salımına neden olmaktadır⁵¹⁻⁵³.

N-tipi kanalları işlevleri G-proteinler gibi reseptörlere bağlı sekonder haberci sistemler tarafından değiştirilebilir. N-tipi kanallar hipokampal piramidal nöronların soma, dentrit ve dentritik uçlarında da lokalize oldukları bildirilmiştir ve farklı dokularda farklı elektrobiyofizik özellikler sergiledikleri gösterilmiştir⁵⁴.

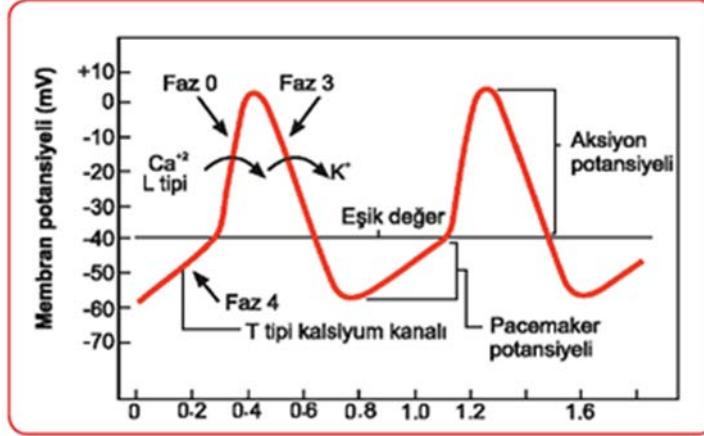
N-tipi kanallar, DRG nöronlarında ve dorsal boynuz terminallerinde de bulunur. Burada bulunan orta büyüklükteki A-tipi lifler ve küçük çaplı C-tipi liflerin, her ikisi de ağrı algılamasından sorumlu liflerdir. Bu kanalların, bu yolakta oynadıkları önemli role rağmen, sadece ağrı yollarıyla sınırlı olmayıp, santral sinir sisteminde' de yaygın bir şekilde bulunurlar. Yapılan çalışmalarda, Cav2.2 kanalları ve akımları, DRG nöronlarında nöronal VGKK aracılı Ca²⁺ akımının önemli bileşenleri olduğu gösterilmiştir⁵⁵.

CaV3 / T-Tipi Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalları

T-tipi kanallar (geçici, hızlı), L-tipi kanallardan çok farklı elektrobiyofizik özelliklere sahiptir. Daha düşük eşiğe sahip olan T-tipi kanalları aktivasyon ve inaktivasyonu için düşük voltaja ihtiyaç duymaktadırlar. T-tipi kalsiyum kanallarının özellikle inaktivasyonları çok hızlı olduğu için sadece kısa süreliğine kalsiyum akımına müsaittirler. Düşük voltajla aktive olan T-tipi kanallar ilk olarak sıçan ve civciv duyu nöronlarında tanımlanmıştır. Aynı zamanda, iskelet kası, nöroendokrin hücreler ve talamik nöronlar gibi heyecan verici diğer dokularda ve ayrıca uyarılmayan fibroblastlar, osteoblastlar ve astrositler gibi hücrelerde de tanımlanmıştır. Birçok dokuda bulunmasına rağmen sinoatrial düğüm, atrioventriküler düğüm, nöronal hücre, kalp, plasenta ve düz kaslarda daha çok yoğunlaştığı gösterilmiştir⁵⁵. T tipi kanallar, genellikle dinlenim zar potansiyelinden küçük değişikliklere yanıt olarak açılıp hızla inaktive olan ve düşük iletkenliğe sahip (8-12 pS) kanallardır. Uyarılabilirlikte işlev gören T-tipi kanalların spesifik brokerleri çok azdır. Amilorid ve mibefradil tarafından selektif şekilde bloke olurlar. Daha düşük eşiğe sahip T-tipi kalsiyum kanalları Ni²⁺ en başta olmak üzere, Cd²⁺ ve Zn²⁺ gibi iki değerlikli katyonlara karşı oldukça duyarlıdır.

Farklı moleküler karakterizasyona sahip olan T-tipi Ca kanalları tipik olarak -70 mV'dan daha pozitif potansiyellerde aktive olurlar ve tam hücre akımları genellikle -40 mV ile maksimaldır. Daha küçük depolarizasyonlar ile (-60 veya -40 mV'a getirebilen) aktive olabilen bu kanallar, dinlenim potansiyelindeki küçük sapmalara duyarlılar ve özellikle kalbin "pacemaker"

aktivitesinde rolleri vardır (şekil.5). Pacemaker hüresinde T tipi kalsiyum kanalı ile kalsiyum girişi olur. Bununla sinüs hüresi eşik değere getirilir (diastolik depolarizasyon). L tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanalı açılarak hücrede depolarizasyon gerçekleşir^{56,57}.



Şekil 5. Sinüs pacemaker hüresinde T ve L tipi kalsiyum kanalı ile oluşan depolarizasyon ve aksiyon potansiyeli.

Ca_v2.3 / R-tipi Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalları

R-tipi voltaj kapılı kalsiyum kanalları orta derecede aktivasyon (etkinleştirme) eşiği ve hızlı inaktivasyon özelliği gösterirler. R (rapidity to accommodate) tip olarak kategorize edilen bu akım, serebellar granül hücrelerdeki HVA akımının yaklaşık % 15'ini oluştururlar. R tipi akım, mutlaka tek bir kanal türünü yansıtmayabilir, ancak benzer farmakolojik ve elektrofizyolojik özelliklere sahip moleküler olarak farklı kanalların bir ailesidir. R tipi akımlar -40 mV civarında aktive olmaya başlar ve 0 mV'de bir tepe genliğine erişir. R tipi akımları destekleyen kanalların doğası tam olarak bilinmemektedir. R tipi kalsiyum kanalları, Ni²⁺; DHP'lere, ω-CgTx'e ve ω-Aga-IVA'ya duyarsızdırlar, ancak Cd²⁺ ve Ni²⁺ iyonlarına eşit ölçüde duyarlı oldukları görülmüştür⁵⁶⁻⁵⁸.

En son yapılan çalışmalarda voltaj kapılı kalsiyum kanallarından Ca_v2.3 nin merkezi bir öneme sahip olduğu bildirilmiştir. Santral sinir sisteminde sinaptik iletim, voltaj kapılı kalsiyum kanallarından Ca_v2.1 ve Ca_v2.3 aracılığıyla presinaptik Ca²⁺ girişi ile gerçekleşmektedir. Ca_v2.3 tipi Ca²⁺ kanalları ağrı davranışı, korku, myelinogenesis ve korti organı fizyolojisinin kontrolünde önemli işlevler üstlendiği gösterilmiştir. Ayrıca, Ca_v2.3 Ca²⁺ kanalları, iskemik

nöronal hasarda koruyucu bir işlev sergilediği ve insanlarda subaraknoid kanamayı takiben vazospazmlara katkıda bulunduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Özellikle hücrenin içine giren Ca^{2+} ve Zn^{2+} 'nin, hücreler arası sinyal iletim kaskadlarında karmaşık etkileri olduğu unutulmamalıdır⁵⁹.

Ca²⁺ Kanal Ailesinin Evrimsel Gelişimi

İyonların hücre zarındaki hareketi yaşamın her şekli için hayatidir ve bakterilerden insanlara kadar evrimsel olarak korunmuştur. Voltaj kapılı iyon kanalları evrimde kritik roller üstlendiği düşünülmektedir. Genomik devrim, iyon kanalı evriminin anlaşılmasına katkıda bulunulmuştur. Voltaj kapılı kalsiyum kanalları, türler arasında oldukça yaygın, ancak seyrek dağılmış bir kanal ailesidir. Özellikle yeşil alglerde Ca_v5 varlığı voltaj kapılı kalsiyum iyon kanalların, ilk hayvanın ortaya çıkışından çok önce var olduğunu ortaya koymuştur⁵⁹. İki alt aileden gelen Ca_v1 ve Ca_v2 olarak bilinen HVA Ca^{2+} kanalları ve bunları kodlayan genler düşük dizi homolojisinden beklendiği üzere nispeten erken dönemlerde ortaya çıkmışlardır. HVA kanallarının her iki alt ailesi, kedi balıklarından (Dog fish/marine rays) insanlara kadar uzanan omurgalı türlerinde bulunur ve çoğu durumda her iki türde de hemen hemen aynı yapıdadırlar^{61,62}.

Türler arasında aminoasit sıralamasında küçük değişiklikler söz konusu olmakta, bu bile elektrobiyofizik özelliklerde, iyon seçiciliği ve ilaç duyarlılığı gibi belirgin değişikliklere yol açmaktadır⁶³. Omurgasızlar arasında yer alan, yumuşakçalarda, böceklerde ve nematodlarda Ca_v1 ve Ca_v2 olarak bilinen her iki kanal türü gözlemlenmiştir⁶⁴⁻⁶⁶. LVA ve HVA akımları hamamböceklerinde ve sülükte bulunduğu tespit edilmiştir^{67,68}. Çeşitli LVA akımlarının, Ca_v3 'e benzer bir moleküler yapıya sahip kanallar tarafından taşınıp taşınmadığı ise tam olarak bilinmemektedir.

Sonuç

Voltaj kapılı Ca^{2+} kanal tiplerinin ilk belirlenmesinden bugüne, tüm bilinen Ca^{2+} kanal tiplerinin klonlanması, ekspresyonu, dokulardaki dağılımı, yapı ve işlevlerinin aydınlatılması ile ilgili son on yılda büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Biyofiziksel ve farmakolojik karakteristiklere dayalı birden fazla Ca^{2+} kanalının tanımlanması, alt birim bileşenleri biyokimya ve moleküler biyoloji çalışmaları ile tamamlanmıştır. L,N,P/Q, R ve T tipi Ca^{2+} kanal aktivitesinin temelini anlamaya yönelik yapılan yeni çalışmalar ve gelişmeler gözden geçirilmiştir. Ca^{2+} kanallarını ayıran yapısal özelliklerin moleküler mekanizmalarını açıklığa kavuşturmak ve bunlara özel fonksiyonel roller uygulamak veya kanal tipini seçen ilaçlara yanıt verilmesi açısından önemli ilerlemeler

kaydedilmiştir. Belirsizliğin en büyük alanı, Ca^{2+} kanallarının üç boyutlu yapıları ve kanal alt türleri arasındaki farklılıkların yapısal temeli ile ilgili olanıdır. Moleküler yaklaşımlar içinde iyon kanallarının alt birimlerinin yapı ve işlevleri hakkında elektrobiyofizik, farmakolojik, biyokimyasal ve genetik araştırmalarla gerçekleştirilen birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların gözden geçirilerek burada sunulmuş olması, okuyucular açısından yararlı olacağı düşünülmüştür.

Kaynaklar

1. William AC, Edward PR, Terrance PS, Joerg S. International union of pharmacology. XLVIII. Nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated calcium channels. *Pharmacol Rev.* 2005;57:411-25.
2. Bezanilla F. The voltage sensor in voltage-dependent ion channels. *Physiol Rev.* 2000;80:555-89.
3. Catterall WA, Curtis BM. Molecular properties of voltage-sensitive calcium channels. *Soc Gen Physiol.* 1987;41:201-13.
4. Campbell KP, Leung AT, Sharp AH. The biochemistry and molecular biology of the dihydropyridine sensitive calcium channel. *Trends Neurosci.* 1988;11:425-30.
5. Catterall WA, Seagar MJ, Takahashi M. Molecular properties of dihydropyridine-sensitive calcium channels in skeletal muscle. *J Biol Chem.* 1988;263:3535-8.
6. Glossmann H, Striessnig J. Molecular properties of calcium channels. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 1990;114:1-105.
7. Dolphin A. Mechanism of modulation of voltage-dependent calcium channels by g proteins. *J Physiol.* 1998;506:3-11.
8. Catterall WA. Structure and regulation of voltage-gated Ca^{2+} channels. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2000;16:521-55.
9. Catterall WA. Structure and function of voltage-gated ion channels. In *Molecular Biology of Membrane Transport Disorders*, 2nd ed (Ed GS Stanley): 129-142. New-York, Plenum Press, 1996.
10. Tanabe T, Takeshima H, Mikami A, Flockerzi V, Takahashi H, Kangawa K et al. Primary structure of the receptor for calcium channel blockers from skeletal muscle. *Nature.* 1987;328:313-8.
11. Mori Y, Friedrich T, Kim MS, Mikami A, Nakai J, Ruth P et al. Primary structure and functional expression from complementary DNA of a brain calcium channel. *Nature.* 1991;350:398-402.
12. Williams ME, Feldman DH, McCue AF, Brenner R, Veliçelebi G, Ellis SB et al. Structure and functional expression of $\alpha 1$, $\alpha 2$, and β subunits of a novel human neuronal calcium channel subtype. *Neuron.* 1992;8:71-84.
13. Soong TW, Stea A, Hodson CD, Dubel SJ, Vincent SR, Snutch TP. Structure and functional expression of a member of the low voltage-activated calcium channel family. *Science.* 1993;260:1133-6.
14. Cribbs LL, Lee JH, Yang J, Satin J, Zhang Y, Daud A et al. Cloning and characterization of alpha1H

- from human heart, a member of the T-type Ca²⁺ channel gene family. *Circ Res.* 1998;83:103-9.
15. Lee JH, Daud AN, Cribbs LL, Lacerda AE, Pereverzev A, Klöckner U et al. Cloning and expression of a novel member of the low voltage-activated T-type calcium channel family. *J Neurosci.* 1999;19:1912-21.
 16. McKenna E, Koch WJ, Slish DF, Schwartz A. Toward an understanding of the dihydropyridine-sensitive calcium channel. *Biochem Pharmacol.* 1990;39:1145-50.
 17. Ruth P, Röhrkasten A, Biel M, Bosse E, Regulla S, Meyer HE, Flockerzi V, Hofmann F. Primary structure of the beta subunit of the DHP-sensitive calcium channel from skeletal muscle. *Science.* 1989;245:1115-8.
 18. Varadi G, Lory P, Schultz D, Varadi M, Schwartz A. Acceleration of activation and inactivation by the beta subunit of the skeletal muscle calcium channel. *Nature.* 1991;352:159-62
 19. Singer D, Biel M, Lotan I, Flockerzi V, Hofmann F, Dascal N. The roles of the subunits in the function of the calcium channel. *Science.* 1991;253:1553-7.
 20. Glossmann H, Striessnig J, Hymel L, Schindler H. Purified L-type calcium channels: only one single polypeptide (α 1-subunit) carries the drug receptor domains and is regulated by protein kinases. *Biomed Biochim Acta.* 1987;46:351-6.
 21. Birnbaumer L, Campbell KP, Catterall WA, Harpold MM, Hofmann F, Horne WA et al. The naming of voltage-gated calcium channels. *Neuron.* 1994;13:505-6.
 22. Ellis SB, Williams ME, Ways NR, Brenner R, Sharp AH, Leung AT et al. Sequence and expression of mRNAs encoding the α 1 and α 2 subunits of a DHP-sensitive calcium channel. *Science.* 1988;241:1661-4.
 23. De Jongh KS, Warner C, Catterall WA. Subunits of purified calcium channels. α 2 and δ are encoded by the same gene. *J Biol Chem.* 1990;265:14738-41.
 24. Klugbauer N, Lacinová L, Marais E, Hobom M, Hofmann F. Molecular diversity of the calcium channel α 2 δ subunit. *J Neurosci.* 1999;19:684-91.
 25. Bosse E, Regulla S, Biel M, Ruth P, Meyer HE, Flockerzi V et al. The cDNA and deduced amino acid sequence of the γ subunit of the L-type calcium channel from rabbit skeletal muscle. *FEBS Lett.* 1990;267:153-6.
 26. Eberst R, Dai S, Klugbauer N, Hofmann F. Identification and functional characterization of a calcium channel gamma subunit. *Pflugers Arch.* 1997;433:633-7.
 27. Black JL, Lennon VA. Identification and cloning of putative human neuronal voltage-gated calcium channel gamma-2 and gamma-3 subunits: neurologic implications. *Mayo Clin Proc.* 1999;74:357-61.
 28. Letts VA, Felix R, Biddlecome GH, Arikath J, Mahaffey CL, Valenzuela A et al. The mouse stargazer gene encodes a neuronal Ca²⁺-channel gamma subunit. *Nat Genet.* 1998;19:340-7.
 29. Gurkoff G, Shahlaie K, Lyeth B, Berman R. Voltage-gated calcium channel antagonists and traumatic brain injury. *Pharmaceuticals.* 2013;6:788-812.

30. Reuter H. The dependence of slow inward current in Purkinje fibres on the extracellular calcium-concentration *J Physiol.* 1967;192:479-92.
31. Carbone E, Lux HD. A low voltage-activated, fully inactivating Ca²⁺ channel in vertebrate sensory neurones. *Nature.* 1984;310:501-2.
32. Tsien RW, Fox AP, Hess P, McCleskey EW, Nilius B, Nowycky MC et al. Multiple types of calcium channel in excitable cells. *Soc Gen Physiol.* 1987;41:167-87.
33. Llinás R, Sugimori M, Hillman DE, Cherksey B. Distribution and functional significance of the P-type, voltage-dependent Ca²⁺ channels in the mammalian central nervous system. *Trends Neurosci.* 1992;15:351-5.
34. Tsien RW, Tsien RY. Calcium channels, stores and oscillations. *Annu Rev Cell Biol.* 1990;6:715-60.
35. Catterall WA, Perez-Reyes E, Snutch TP, Striessnig J. International Union of Pharmacology. XLVIII. Nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated calcium channels. *Pharmacol Rev.* 2005;57:411-25.
36. Dolphin AC. G protein modulation of voltage-gated calcium channels. *Pharmacol Rev.* 2003;55:607-27.
37. Eric RK, James HS, Thomas MJ, Steven AS, Hudspeth AJ. *Principles of Neural Science.* 5th Edition, New York, McGraw-Hill, 2013.
38. Mikami A, Imoto K, Tanabe T, Niidome T, Mori Y, Takeshima H et al. Primary structure and functional expression of the cardiac dihydropyridine-sensitive calcium channel. *Nature.* 1989;340:230-3.
39. Williams ME, Feldman DH, McCue AF, Brenner R, Veliçelebi G, Ellis SB et al. Structure and functional expression of $\alpha 1$, $\alpha 2$, and β subunits of a novel human neuronal calcium channel subtype. *Neuron.* 1992;8:71-84.
40. Bech-Hansen NT, Naylor MJ, Maybaum TA, Pearce WG, Koop B, Fishman GA et al. Loss-of-function mutations in a calcium-channel alpha1-subunit gene in Xp11.23 cause incomplete X-linked congenital stationary night blindness. *Nat Genet.* 1998;19:264-7.
41. Chang FC, Hosey MM. Dihydropyridine and phenylalkylamine receptors associated with cardiac and skeletal muscle calcium channels are structurally different. *J Biol Chem.* 1988; 263:18929-37.
42. Gupta D. A review on calcium channel & its blockers. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2012;3:57-61.
43. Hirning LD, Fox AP, McCleskey EW, Olivera BM, Thayer S A. Dominant role of N-type calcium channels in evoked release of norepinephrine from sympathetic neurons. *Science.* 1988;239:57-61.
44. Tsien, RW, Tsien RY. Calcium channels, stores, and oscillations. *Annu Rev Cell Biol.* 1990;6:715-60.
45. Rane SG, Holz GG, Dunlap K. Dihydropyridine inhibition of neuronal calcium current and substance p release. *Pflugers Arch.* 1987;409:361-6.
46. Janis RA, Shrikhande AV, McCarthy RT, Howard AD, Greguski R, Scriabine A. Isolation and characterization of a fraction from brain that inhibits 1,4-[3h]dihydroopyridine binding and L-type calcium channel current. *FEBS Lett.* 1988; 239:233-6.

47. Yue DT, Marban E. Permeation in the dihydropyridine-sensitive calcium channel. Multi-ion occupancy but no anomalous mole-fraction effect between Ba²⁺ and Ca²⁺. *J Gen Physiol.* 1990;95:911-39.
48. Llinás R, Sugimori JW, Cherksey B. Blocking and isolation of a calcium channel from neurons in mammals and cephalopods utilizing a toxin fraction (FTX) from funnel-web spider poison. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989;86:1689-93.
49. Adams ME, Bindokas VP, Hasegawa L, Venema VJ. Ω -agatoxins: novel calcium channel antagonists of two subtypes from funnel web spider (*Agelenopsis aperta*) venom. *J Biol Chem.* 1990;265:861-7.
50. Yousef MF, Omar AH, Morsy MD, Abd El-Wahed MM, Ghanayem NM. The mechanism of action of calcium channel blockers in the treatment of diabetic nephropathy. *Int J Diabetes Metab.* 2005;13:76-82.
51. Houman K, Gerald WZ. Voltage-gated calcium channels and idiopathic generalized epilepsies. *Physiol Rev.* 2006;86:941-66.
52. Westenbroek RE, Hell JW, Warner C, Dubel SJ, Snutch TP, Catterall WA. Biochemical properties and subcellular distribution of an N-type calcium channel $\alpha 1$ subunit. *Neuron.* 1992;9:1099-1115.
53. Mills LR, Niesen CE, So AP, Carlen PL, Spigelman I, Jones OT. N-type Ca²⁺ channels are located on somata, dendrites, and a subpopulation of dendritic spines on live hippocampal pyramidal neurons. *J Neurosci.* 1994;14:6815-24.
54. Williams ME, Brust PF, Feldman DH, Patthi S, Simerson S, Maroufi A et al. Structure and functional expression of an omega-conotoxin-sensitive human N-type calcium channel. *Science.* 1992;257:389-95.
55. Gribkoff VK. The role of voltage-gated calcium channels in pain and nociception. *Semin Cell Dev Biol.* 2006;17:555-64.
56. Perez-Reyes E. Molecular physiology of low-voltage-activated t-type calcium channels. *Physiol Rev.* 2003;83:117-61.
57. Aidley DJ, Stanfield PR. *Ion Channels: Molecules in Action.* New York, Cambridge University Press, 1996.
58. Terrance PS, Jean P, Eleanor M, John E. Molecular properties of voltage-gated calcium channels. In *Voltage Gated Calcium Channels* (Ed GW Zamponi): 61-94. US, Landes Publishers, 2005.
59. Wormuth C, Lundt A, Henseler C, Müller R, Broich K, Papazoglou A et al. Review: Cav2.3 R-type voltage-gated Ca²⁺ channels – functional implications in convulsive and non-convulsive seizure activity. *Open Neurol J.* 2016;10:99-126.
60. Verret F, Wheeler G, Taylor AR, Farnham G, Brownlee C. Calcium channels in photosynthetic eukaryotes: implications for evolution of calcium-based signalling. *New Phytol.* 2010;187:23-43.
61. Horne WA, Ellinor PT, Inman I, Zhou M, Tsien RW, Schwarz TL. Molecular diversity of Ca²⁺ channel $\alpha 1$ subunits from the marine ray *Discopyge ommata*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993;90:3787-91.
62. Moran Y, Barzilai MG, Liebeskind BJ, Zakon HH. Evolution of voltage-gated ion channels at the

- emergence of Metazoa. *J Exp Biol.* 2015;218:515-25.
63. Greenberg DA. Calcium channels and calcium channel antagonists. *Ann Neurol.* 1987;21:317-30.
 64. Edmonds B, Klein M, Dale N, Kandel ER. Contributions of two types of calcium channels to synaptic transmission and plasticity. *Science.* 1990;250:1142-7.
 65. Smith LA, Wang XJ, Peixoto AA, Neumann EK, Hall LM, Hall JC. A drosophila calcium channel $\alpha 1$ subunit gene maps to a genetic locus associated with behavioral and visual defects. *J Neurosci.* 1996;16:7868-79.
 66. Schafer WR, Kenyon CJ. A calcium-channel homologue required for adaptation to dopamine and serotonin in *Caenorhabditis elegans*. *Nature.* 1995;375:73-8.
 67. Grolleau F, Lapied B. Two distinct low-voltage-activated Ca^{2+} currents contribute to the pacemaker mechanism in cockroach dorsal unpaired median neurons. *J Neurophysiol.* 1996;76:963-76.
 68. Lu J, Dalton JF, Stokes DR, Calabrese RL. Functional role of Ca^{2+} currents in graded and spike-mediated synaptic transmission between leech heart interneurons. *J Neurophysiol.* 1997;77:1779-94.

Correspondence Address / Yazışma Adresi

Mustafa Emre
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyofizik Anabilim Dalı,
Adana , Turkey
e-mail: memre@cu.edu.tr

Geliş tarihi/ Received: 20.07.2017**Kabul tarihi/Accepted:** 10.09.2017