

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

Vápník jako fyziologicky významný prvek

Bakalářská práce

Autor práce: Aigerim Turgunbayeva

Obor studia: Výživa a potraviny

Vedoucí práce: prof. Ing. Mgr. Markéta Sedmíková, Ph.D.

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vápník jako fyziologicky významný prvek" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 02.05.2021

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí mé práce prof. Ing. Mgr. Markétě Sedmíkové, Ph.D. za cenné rady, profesionální přístup a důvěru. Dále děkuji své rodině za podporu a víru.

Vápník jako fyziologicky významný prvek

Souhrn

Daná práce je věnována vápenatému kationtu v organismu. Z důvodu jeho zapojení do fyziologických dějů je potřeba zachovávat hladiny Ca^{2+} na stálých úrovních. V kostech a v zubech člověka je představen ve formě hydroxylapatitu. V první kapitole je popsána krátká historie a vlastnosti daného prvku. Dále je zde představeno doporučené množství pro jedince, a to s ohledem na individualitu a zdroje, odkud vápník může čerpat. Druhá kapitola je zaměřena na hospodaření s vápníkem, kde je rozebráno vstřebávání vápníku pasivní a aktivní cestou, a také vylučování. Významnou podkapitolou je regulace hladin Ca^{2+} přes hormonální řízení, které může probíhat cestou reabsorpce ledvinami a kostní regulací. Podstatnými hormony jsou parathormon, kalcitriol a kalcitonin. Třetí část je věnována fyziologickému významu Ca^{2+} . Je zohledněno, jakým způsobem se vápník účastní kontrakce kosterních a srdečních svalů, sražení krve a změn krevního tlaku. V roli buněčného posla využívá vápenatý kationt kanály řízené napětím, ligandou a koncentrací vápníku, pumpy, výměníky. V třetí podkapitole je představen systém transportu Ca^{2+} v mitochondrii, je vyznačena spoluúčast vápníkových iontů v zániku buňky, a to zejména v nekróze a apoptóze zprostředkovanou mitochondrií. V poslední podkapitole jsou zohledněny onemocnění spojené s poruchou hladiny vápníku v organismu, nebo mutace, které vyvolávají vysokou citlivost proteinů na Ca^{2+} . V případě neurodegenerativních onemocnění se často jedná o porušení rovnováhy a otevření mPTP. Onemocnění jako syndrom Stormorkena, katecholaminergní polymorfni komorová tachykardie, spadají do skupiny onemocnění spojených s mutací Ca^{2+} -senzitivních proteinů, kde dochází ke snížení nebo zvýšení jejich funkcí. V poslední části popsané nemoci jako hypokalcemie a hyperkalcemie, které mohou být vyvolány poruchami ve funkcích vitamínu D, parathormonu, štítné žlázy.

Klíčová slova: vápenatý kationt, vápníková signalizace, vápník, fyziologie, buňka

Calcium as a physiologically important element

Summary

This work is devoted to the calcium cation in the body. Due to involvement in physiological processes, it is necessary to maintain Ca^{2+} concentration at a constant level. It is presented in human bones and teeth in the form of hydroxylapatite. The first chapter describes a brief history and properties of the element as well as the recommended amount for each individual, according to personal parameters and sources of the calcium. The second chapter is focused on calcium operation and excretion, where calcium absorption could be maintained by active and passive way. Following subchapter describes the regulation of Ca^{2+} levels through hormonal control, which can occur via renal reabsorption and bone regulation. The essential hormones are parathyroid hormone, calcitriol, and calcitonin. The third part is dedicated to the physiological significance of Ca^{2+} . It defines how calcium is involved in skeletal and cardiac muscle contraction, blood clotting, and changes in blood pressure. In the role of the cell messenger, the calcium cation uses channels controlled by voltage, ligands and calcium concentration, pumps, exchangers. Relative subchapter presents transportation system of Ca^{2+} in mitochondria and the participation of calcium ions in cell death, especially in necrosis and apoptosis mediated by mitochondria. The last subchapter presents diseases associated with a failure of calcium levels in the body or mutations that cause high sensitivity of proteins to Ca^{2+} . It was noticed that in the case of neurodegenerative diseases, it is often a matter of imbalance and opening of mPTP. Further details reveal that diseases such as Stormorken syndrome, catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia fall into the group of illness associated with loss-of-function or gain-of-function mutations in Ca^{2+} -sensitive proteins. The last part describes hypocalcemia and hypercalcemia diseases and their result, which can be followed by disorder of vitamin D, parathyroid hormone, thyroid gland.

Keywords: calcium cation, calcium signaling, calcium, physiology, cell

Obsah

1 Úvod	7
2 Cíl práce	8
3 Literární přehled.....	9
3.1 Obecný přehled o vápníku	9
3.1.1 Historie a vlastnosti vápníku	9
3.1.2 Doporučené dávky	9
3.1.3 Zdroje vápníku.....	10
3.2 Hospodaření s vápníkem	12
3.2.1 Vstřebávání vápníku	12
3.2.2 Regulace hladiny vápníku.....	12
Transcelulární a intracelulární transport ve střevu	13
Hormonální regulace vápenatých kationtů	14
3.3 Fyziologický význam.....	17
3.3.1 Obsah vápníku v organismu	17
3.3.2 Svalová kontrakce.....	17
3.3.3 Sražení krve	19
3.3.4 Krevní tlak	20
3.4 Vápník jako buněčný posel	21
3.4.1 Vápenaté kanály, pumpy a mechanismy.....	21
Napěťově řízené Ca ²⁺ -kanály (VGCC).....	21
Kanály regulované koncentrací	22
Kanály řízené ligandou	22
SOCE	22
SERCA pumpa	23
PMCA pumpa	23
3.4.2 Proliferace a diferenciace buněk.....	23
3.4.3 Mitochondriální vápník	24
Zánik buňky	27
3.4.4 Onemocnění spojené s vápenatým kationtem.....	28
Ischemicko-reperfuzní poškození	28
Neurodegenerativní onemocnění	29
Onemocnění spojené s mutací Ca ²⁺ -senzitivních proteinů	29
Hypokalcemie	30
Hyperkalcemie.....	30
Závěr	31
4 Literatura.....	32

1 Úvod

Zájem našich předchůdců o vápník byl patrný již ze starověku, kde ho používali především ke stavebním účelům.

Vápník hraje podstatnou roli ve fyziologických procesech odehrávajících se v organismu. Je obecně známo, že se podílí na stavbě kostí a zubů, ale kromě toho má i široké spektrum působení. Velká část vápníku v organismu, konkrétně 99 %, se nachází v kostech ve formě hydroxylapatitu, kde je významný pro získání kostní hmoty a udržování hustoty. Zbylé 1 % vápenatých kationtů je zapojeno do dějů v buňkách.

V plazmě existuje polovina vápníku ve volné formě, kde koncentrace ionizovaného vápníku závisí na pH plazmy, přítomnosti proteinů, druhá půlka se váže na proteiny, nebo se zde vytváří soli.

Vápenatý kationt je unikátním a jediným prvkem, který je hormonálně regulován v těle. Přitom jeho hladina je striktně kontrolována z důvodu jeho účasti ve fyziologických dějích. Vápníkový iont je zapojen do biochemických a fyziologických procesů, jako je uvolňování hormonů, aktivace a regulování enzymů a proteinů, udržování osmotické rovnováhy buněk, buněčná motilita, sražení krve, regulace krevního tlaku. Je zapojen do procesů spojených s druhým poslem, neurotransmitery, biomembrány, mechanickým stresem, svalovými proteiny a buněčnou komunikací. Je významný v procesech proliferaci a diferenciaci buněk. Je jasné, že do realizace daných dějů jsou zapojeny další buněčné nástroje, jako jsou receptory, kanály, pumpy. Narušení homeostázy vápníku vede k poškození vnitřního systému a k vyvolání onemocnění, které může být od hypokalcemie až po Alzheimerovy choroby.

Z důvodu zapojení vápenatého kationtu do zásadních dějů v organismu bylo cílem práce shrnout současné poznatky o funkci vápenatého kationtu v organismu, zejména jeho účasti ve fyziologických procesech a ve vápníkové signalizaci.

2 Cíl práce

Cílem práce bylo shrnout současné poznatky o funkci vápenatého kationtu v organismu. Současné poznatky ukazují na jeho zapojení do fyziologických významných dějů, jako je srážení krve, kontrakce svalů, změna krevního tlaku. Různí autoři uvádějí, že neregulované hladiny vápníkových iontů mohou být příčinou srdečních chorob, neurodegenerativních onemocnění, hypokalcemie a hyperkalcemie. Z toho vyplynul další cíl, který byl věnován vápníkové signalizaci.

3 Literární přehled

3.1 Obecný přehled o vápníku

3.1.1 Historie a vlastnosti vápníku

Vápník je kovem alkalických zemin, který se podle hojnosti výskytu nachází na pátém místě a je třetím kovem v zemské kůře dle hmotnosti s atomovým číslem dvacet. Vápník se nevyskytuje ve volné formě v přírodě zejména kvůli vlastnosti lehce reagovat s kyslíkem a vodou (Perrone & Monteiro, 2016). Může existovat jak v pevné formě, tak i v tekuté (Buchowski, 2015).

Název „kalcium“ pochází z latinského slova „calx“ a můžeme ho označovat jako „vápno“. Už ze starověku ho lidé používali ve stavbě. Například Římané v prvním století připravovali beton tak, že smíchali vápno (CaO) a horniny. Čistý vápník byl poprvé získán v roce 1808 sirem Humphry Davem pomocí hydrolýzy CaO a HgO (Perrone & Monteiro, 2016).

Nejčastěji se setkáváme s vápníkovými sloučeninami v pevné formě, jako jsou vápenec, mramor, křída (CaCO₃), sádrovec a anhydrit (CaSO₄), kazivec (CaF₂), apatit (Ca₃(PO₄)₂). Kromě výskytu v minerálech a horninách, lze nalézt vápník v kostře, krunýři a skořápce některých živých organismů. Takže existuje v jednotlivých částech rostlin, kde koncentrace se může pohybovat od 0,1 % do 10 %. V kostech a zubech přítomen jako hydroxylapatit (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂) (Buchowski, 2015).

V periodické tabulce se vápník umísťuje ve čtvrté periodě. Je schopen vytvářet iontové vazby s anionty díky dvěma elektronům, které má ve své valenční sféře ([Ar] 4s²). Tyto dva elektrony jsou snadno odštěpitelné a zvyšují atomovou stabilitu vápníku. Vápenatý kationt tvoří anorganické soli, které jsou rozpustné ve vodě (kromě CaSO₄, CaCO₃, Ca₃(PO₄)₂) (Perrone & Monteiro, 2016).

Ca²⁺ velmi dobře se váže na proteiny kvůli iontovému poloměru vápníku, který je 99 pm a jeho schopností je zahrnovat 4 až 12 atomů kyslíku ve své primární koordinační sféře (Weaver & Heaney 1999; Clapham 2007).

3.1.2 Doporučené dávky

Doporučená denní dávka vápníku se pohybuje v rozmezí od 1000 mg až do 1500 mg v závislosti na faktorech, jako je věk či stav metabolismu (Peacock, 2010). Doporučené hodnoty jsou určeny tak, aby pokryly potřeby organismu, jako je růst, vývoj a udržování zdraví. Množství je stanoveno na základě vybraných zdravotních parametrů a výsledků (Cormick & Belizán, 2019) (viz Tabulka č. 1).

Tabulka č. 1: Stravovací referenční hodnoty vápníku podle FAO/WHO (Upraveno a převzato od Cormick & Belizán, 2019)

Věk	Odhadovaný průměrný požadavek (mg / den)	Doporučený příjem živiny
0–6 měsíců	240–300	300–400
6–12 měsíců	240–300	300–400
1–3 roku		500
4–6 let	440	600
7–10 let		1300
Muži		
11–14 let	1040	1300
15–18 let	1040	1300
19–24 let	840	1000
25–50 let	840	1000
50 let	840	1000/1300
Ženy		
11–14 let	1040	1300
15–18 let	1040	1300
19–24 let	840	1000
25–50 let	840	1000
50 let	840	1000
Těhotné		
14–18 let	Nejsou data	Nejsou data
19 a starší	940	1200
Laktace	1040	1000

3.1.3 Zdroje vápníku

Historicky první člověk musel z důvodu lovu zvířat splňovat své energetické potřeby a konzumovat více potravy. Takovým způsobem mohl denní příjem vápníku přesahovat dvakrát dávku 1500 g/den. Těmito zdroji vápníku byly kořeny, hlízy, ořechy a fazole. S domestikací zrna došlo ke snížení příjmu vápníku, protože části rostlin jsou na vápník chudé (Weaver & Heaney, 1999). V dnešní době jsou převládajícím zdrojem vápníku mléčné produkty (viz Tabulka č. 2). Dalšími zdroji jsou zelenina, ovoce, kde je obsah vápníku nízký; obiloviny, potraviny obohacené vápníkem, doplňky stravy, ořechy, koření (Buchowski, 2015) (viz Tabulka č. 3).

Konzumace mléčných produktů je v každé zemi různá. Například v jídelníčku představitelů Skandinávských zemí jsou převládajícím zdrojem vápníku mléčné produkty, ve Finsku a Švédsku je z daných výrobků přijímáno 60 % vápníku, v Norsku až 70 %. Spotřeba vápníku u žen ze Skandinávského regionu sestavuje 800–1000 mg/den, u mužů 1000–1200 mg/den (Uusi-Rasi et al., 2013). Ve stravě západního stylu je typicky přijímat vápník z produktů, jako je maso, ryba, obiloviny, luštěniny, kde je podíl vápníku nízký, kolem 1–5 %.

U obyvatelů Spojených států amerických, konkrétně u 40 % dospělých jedinců, u 70 % starších žen je doporučeno využívat vápník jako doplněk stravy. Nejčastějšími formami vápníku jsou v těchto doplňcích stravy uhličitan vápenatý, citrát vápenatý, laktát vápenatý, glukonát, glukohexonát a hydroxylapatit. Přestože je uhličitan vápenatý bohatší na vápník, je mnohdy spojen s výskytem nežádoucích vedlejších účinků (Buchowski, 2015).

I když jsou mléčné produkty významným zdrojem vápníku, je důležité si uvědomit, že absorpce vápníku z nich tvoří okolo 30 % (Weaver & Heaney, 1999).

Tabulka č. 2: Obsah vápníku ve vybraných zdrojích mléčných potravin běžně přítomných ve stravě (Upraveno a převzato od Buchowski, 2015)

Zdroj	Vápník (mg/100 g)
Mléko odtučněné (s přidaným vitamínem A, D)	170
Mléko se sníženým obsahem tuku (2 % mléčného tuku)	140
Mléko tučné (3,25 %)	120
Jogurt s nízkým obsahem tuku (s/bez přídavku ovoce)	120–190
Mléko suché, odtučněné, bez přidaných vitamínů A, D.	1250
Tvaroh odtučněný nebo s 1–2 % mléčného tuku	60–85
Zmrzlina na bázi mléka	130–170
Sýr (např. čedar, švýcarský, muenster, provolon, mozzarella)	400–800
Vejce, celé – syrové nebo vařené	56–62

Tabulka č. 3: Obsah vápníku ve vybrané zelenině a ovoci běžně přítomných ve stravě (Upraveno a převzato od Buchowski, 2015)

Zdroj	Vápník (mg/100 g)
Brukev řepák, kapusta – vařené	130–150
Kapusta, rukola, brukev řepák, sója, řepa zelená – syrové	120–200
Ibišek jedlý, čínské zelí, brokolice, špenát – syrové	80–100
Mrkev, rajčata, růžičková kapusta, čekanka, dýně – syrové	30–40
Cibule, chřest, fazol měsíční, zelený hrášek – syrové	15–30
Mandarinky, černý rybíz, pomeranče	40–60
Ostružiny, kiwi, hrozny	27–37
Papája, grapefruit, angrešt	20–25
Jablka, hrušky, meruňky, broskve	4–8

3.2 Hospodaření s vápníkem

Koncentrace vápenatých kationtů v extracelulární tekutině je udržována příštítným tělískem a vitamínem D na hladině 4,8 mg/100 mL (1,20 mmol/l), stejně jako komplexní vápník na 1,6 mg/100 mL (0,4 mmol/l). V plazmě se nachází nepatrné části vápníku vázaného na proteiny s koncentrací 3,2 mg/100 mL (0,8 mmol/l) (Buchowski, 2015).

3.2.1 Vstřebávání vápníku

Absorpce vápníku začíná v tenkém střevě, kde se zúčastní 1,25-dihydroxyvitamín D₃, což je aktivní hormonální metabolit vitamínu D, estrogen, kalbindin, TRPV6 kanál (Bronner, 2009). Existují dvě dráhy absorpce, a to aktivní a pasivní transport (Buchowski, 2015). Čas zadržování tráveniny v duodenu jsou minuty, v dolní polovině střeva je přes 2 hodiny. Proto je v duodenu absorbován vápník, který byl přijat v nízkých dávkách (Bronner 2009; Buchowski 2015). V tlustém střevě absorpce vápníku téměř neprobíhá, a jeho podíl sestavuje přibližně 10 % (Bronner, 2009).

Aktivní neboli transcelulární transport je prováděn převážně v duodenu a jejunu. Po perorálním podání vápníku dochází k jeho vstřebávání přes TRPV6 kanály, poté následuje intracelulární difúze, kde se molekula vápníku naváže na kalbindin D_{9k}. Posledním dějem je exkrece Ca²⁺ prostřednictvím Ca²⁺ ATPázy na bazolaterální membráně epiteliálních buněk. Účast jednotlivých molekul v metabolismu je podstatná, estrogen tak ovlivňuje vápníkový kanál TRPV6. Následkem je zlepšení procesu transcelulární absorpce, 1,25-dihydroxyvitamínu D₃ působí na membránové vápníkové kanály a aktivuje kalbindin (Bronner, 2009).

Pasivní transport, což je paracelulární transport, je převládajícím typem absorpce vápníku v tenkém střevě, který je prováděn po celé jeho délce, ale převládá zejména v distální části (Christakos, 2012). K jeho účinnosti dochází při příjmu přiměřeného nebo vysokého množství vápníku (Bronner & Pansu, 1999). Paracelulární transport je prováděn prostřednictvím zonula occludens a struktur v mezibuněčném prostoru, jako je kladin (Christakos, 2012).

Vylučování Ca²⁺ močí je součástí udržování bilance vápníku mezi množstvím, které je filtrováno ledvinami a reabsorpcí z renálních tubulů. 98 % vápníku je reabsorbováno ledvinami, a to buď pasivně v proximálním tubulu, nebo aktivně ve vzestupné části Henleovy smyčky, distálním tubulu a sběrném kanálku (Buchowski, 2015). Z celého množství filtrovaného vápníku jsou jenom 1–2 % vylučována močí (Beggs & Alexander, 2017). Kromě moči může exkrece vápníku probíhat přes stolicí, pot, kůži a vlasy (Theobald, 2005).

3.2.2 Regulace hladiny vápníku

Tři základní mechanismy se podílejí na udržování homeostázy vápenatých kationtů. Tím je střevní absorpce, kostní resorpce a tvoření, reabsorpce ledvinami (Boros et al., 2009). Pomocí CaSR, což jsou extracelulární receptory pro vápenaté ionty, vyskytujících v příštítném tělísku je podporováno regulování extracelulárního vápníku pomocí procesů popsanych v předchozí větě (Pu et al., 2016).

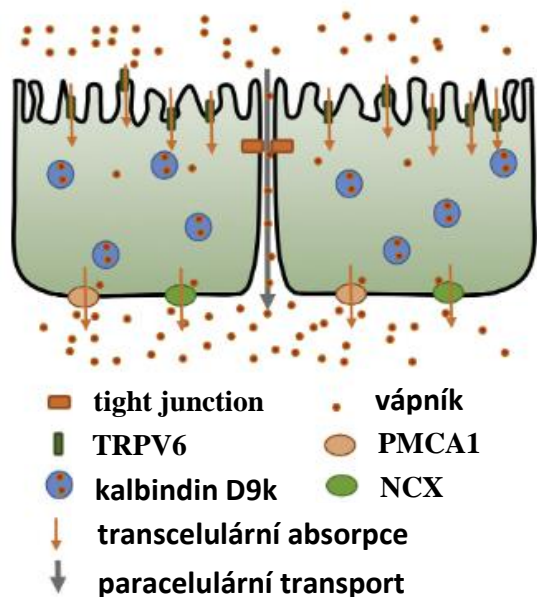
Absorbce vápníku v trávicím traktu může být různá, jelikož je závislá na pH (Perrone & Monteiro, 2016).

Transcelulární a intracelulární transport ve střevu

Existují 2 typy transportu vápníku přes střevo. Jedná se o transcelulární a paracelulární typ. Umožnění jednoho nebo druhého typu transportu závisí na množství přijatého vápníku, rozpustnosti a alkalitě chymusu, biologické dostupnosti (Wongdee et al., 2019).

Transcelulární absorpce je prováděna za pomoci vápníkových kanálů, intracelulárních vápník vázajících proteinů a vápníkových pump. Metodou transcelulární absorpce v duodenu střeva projde 80 % přijímaného vápníku při nízkovápníkové dietě a méně než 10 % přijímaného vápníku při vysokovápníkové dietě (Pu et al., 2016). Prvním krokem je průchod vápníku kanálem TRPV6, který se nachází v kartačovém lemu střev a umožňuje průnik vápenatých kationtů do enterocyt (Diaz de Barboza et al. 2015, Pu et al. 2016). Daný kanál je selektivní jenom pro vápník, kde protein obsahuje dlouhý N-terminální a C-terminální domény a 6 putativních transmembránových domén. Výše exprese TRPV6 ve střevě je regulována vitamínem D (Pu et al., 2016). Druhým krokem po transportu vápníku přes TRPV6 kanál do buňky je navázání vápníku na vápník pufrující protein, zejména kalbindin D9k (Wongdee et al., 2019). Daný protein váže vápník s vysokou afinitou kvůli existenci u molekuly jedné klasické EF-ruky a jedné pseudo EF-ruky (Pu et al., 2016). Kromě toho, že kalbindin váže vápník a přenáší Ca^{2+} z apikální strany do bazolaterální membrány enterocytů, také zachovává jeho intracelulární koncentraci na úrovni 10^{-7} mol/l. Proto odchylky od normální funkce kalbindinu mohou vést k předčasné smrti buňky (Diaz de Barboza et al., 2015). Třetím krokem je vyloučení vápníku z bazolaterální membrány do cév pomocí PMCA1b, který je z 80 % zodpovědný za extruzi Ca^{2+} , a NCX1 hrající minoritní roli (Areco et al., 2020).

Paracelulární transport představuje dráhu pro příjem vápníku, který převládá v jejunu a ileu (Diaz de Barboza et al., 2015). Pasivní paracelulární transport Ca^{2+} je podmíněn řadou faktorů, jako je koncentrace a elektrický gradient napříč epitelu. Při paracelulárním transportu je významnou částí zonula occludens, nebo tzv. „tight junction“, což jsou mezibuněčné struktury, kde se plazmatické membrány sousedních buněk nacházejí v blízkém kontaktu (Diaz de Barboza et al., 2015) (viz Obrázek č. 1). Propustnost zonuly occludens reguluje mnoho proteinů včetně kladinu 1 a 12 (Pu et al., 2016). Daná cesta je majoritní při příjmu vysoké dávky Ca^{2+} (Diaz de Barboza et al., 2015).



Obrázek č. 1: Transcelulární a paracelulární transport Ca^{2+} (Upraveno a převzato od Pu et al. 2016)

Hormonální regulace vápenatých kationtů

Kalcitonin, kalcitriol a parathormon (PTH) jsou tři hormony, které jsou zapojené do procesu homeostázy vápníku. Snížená hladina Ca^{2+} v plazmě vyvolává produkci a sekreci PTH, zvýšené množství naopak inhibuje (Theobald, 2005).

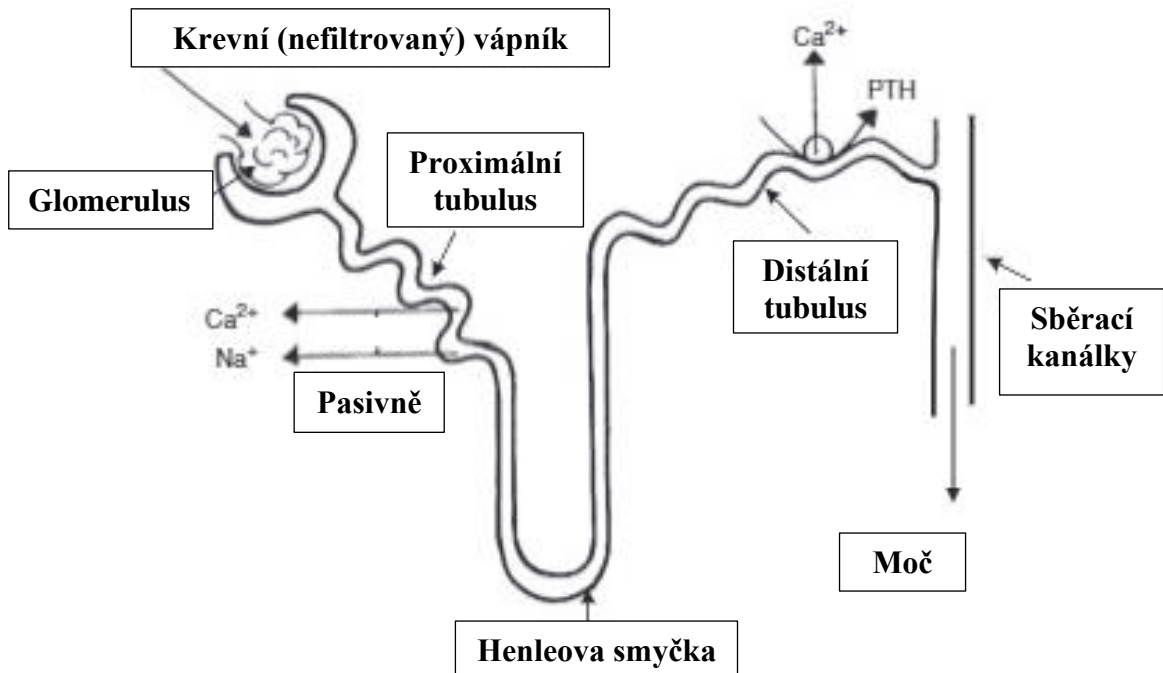
Reabsorpce v ledvinách

V ledvinách probíhá zpětná resorpce vápníku tak, že volný ionizovaný vápník je filtrován přes glomeruly. Mezitím dochází k pasivní reabsorpci vápníku v oblasti proximálního tubulu nefronu a ve vstoupné části Henleovy smyčky (Boros et al. 2009, Beggs & Alexander 2017). Přitom v proximálním kanálku nefronu probíhá nejvyšší absorpce vápníku (viz Obrázek č.2).

Existují dvě cesty zpětné resorpce, kterými jsou paracelulární a transepiteliální cesta (Pu et al., 2016). Paracelulární reabsorpce probíhá po celé délce nefronu na základě gradientu stanoveným NaCl a reabsorpcí vody (Boros et al. 2009, Beggs & Alexander 2017). Hlavní struktury v dané dráze jsou kladin 2, který zajišťuje propustnost vápníku, kladin 16 a 19 tvoří póry propustné pro kationty v zonula occludens (Beggs & Alexander, 2017).

Transepiteliální reabsorpce je podobná transcelulární absorpci vápníku ve střevě. Ta se skládá ze třech kroků. První je transport vápníku do intracelulárního prostoru prostřednictvím vápníkového kanálu TRPV5, který je regulován anexinem-2, Rab11a, kalmodulinem a dalšími proteiny. Druhým krokem je vázání intracelulárního vápníku proteiny pufrujících vápník, mezi které patří kalbindinD28k a kalbindinD9k. Pasivní difuzí se vzniklá molekula dostává do bazolaterální membrány přes vápníkový gradient. Posledním krokem je transport do krve pomocí proteinů PMCA1b nebo NCX1. Ve zpětné resorpci vápníku v ledvinách se účastní parathormon, 1,25-dihydroxyvitamín D_3 a estrogen. Parathormon snižuje

expresi TRPV5, kalbindinu D28k, PMCA1b a NCX1 v ledvinových buňkách, a naopak povzbuzuje produkci 1,25-dihydroxyvitamínu D₃ v proximálních kanálcích (Pu et al., 2016). Poslední krok v procesu vylučování Ca²⁺ z ledvin je vykonáván v distálním tubulu a spojovacím tubulu za účasti aktivní reabsorpce (Boros et al., 2009).



Obrázek č. 2: Exkrece Ca²⁺ v nefronu (Upraveno a převzato od Theobald, 2005)

Regulace kostí

V regulování hladiny Ca²⁺ v krvi se také podílí kosti pomocí osteoblastu a osteoklastu (Pu et al., 2016). Pomocí remodelace kosti lze regulovat koncentraci vápníku (Uusi-Rasi et al., 2013). V případě systematické regulace je zapojena řada hormonů. Pomocí PTH se zachovává stálá hladina vápníkových iontů v seru, a to pomocí procesů: kostní resorpce, zvýšení renální tubulární resorpce Ca²⁺ a renální tvorba kalcitriolu. Při přerušovaném vylučování PTH se formují kosti, naopak při neustálém dochází ke kostní resorpci (Hadjidakis & Androulakis, 2006). V případě snížené koncentrace Ca²⁺ v plazmě dochází k redukci vazby Ca²⁺ na CaSR (Ca²⁺-senzitivní receptory spřažené s G-proteiny), při nárůstu vápenatých kationtů dochází k navýšení množství PTH. Růstu úrovně Ca²⁺ v plazmě je dosaženo pomocí PTH, který zesiluje aktivitu receptoru RANKL. Daný receptor je považován za regulátora činnosti osteoklastů v resorpci kostí (Rowe et al., 2021).

Účast osteoblastů v resorpci vápníku je částečná. Pro regulace iontů Ca²⁺ v plazmě PTH využívá zásoby vápníku a fosfátu v kostech. Může zvyšovat hladinu fosfátu v plazmě a takovým způsobem omezovat vstřebávání vápníku z kostí. Další hormon, kalcitonin, zabezpečuje kostře ochranu během životních procesů, jako je růst, těhotenství

atd. tak, že inhibuje resorpci (Theobald, 2005). Estrogen omezuje tvorbu osteoklastů, tedy tím, že zhoršuje schopnost progenitorových buněk osteoklastů reagovat na RANKL. Je pokládán za podporovatele proliferace osteoblastů a snižuje jejich apoptózu (Hadjidakis & Androulakis, 2006). Rovněž brání syntézu a působení interleukinu-6, který je jedním z komponentů v procesu kostní resorpce (Rowe, 2021). Osteoklasty vysvobozují vápníkový iont tím, že rozrušují kostní tkáň (Pu et al., 2016).

3.3 Fyziologický význam

Pomocí regulace koncentrace vápníku v extracelulární tekutině a buněčných organelách je umožněna řada funkcí, jako například: kontrakce svalů, aktivace enzymů, diferenciaci buněk, imunní odpověď, buněčná smrt, neuronální aktivita (Pu et al., 2016).

Vápenatý kationt působí jako posel pro hormonální funkci, jako spouštěč svalových kontrakcí, stabilizátor proteinové struktury, nebo také jako iniciátor srážení krve (Moreira et al., 2016).

3.3.1 Obsah vápníku v organismu

Z jednoho kilogramu vápníku v těle se větší podíl (99 %) nachází v kostech ve formě fosforečnanu vápenatého (Pu et al., 2016). Zbývajících 0,9 % se nachází uvnitř buněk a 0,1 % pak v extracelulární tekutině. Přitom koncentrace Ca^{2+} v extracelulární tekutině je vyšší než celková koncentrace v buněčných kompartmentech (Buchowski, 2015).

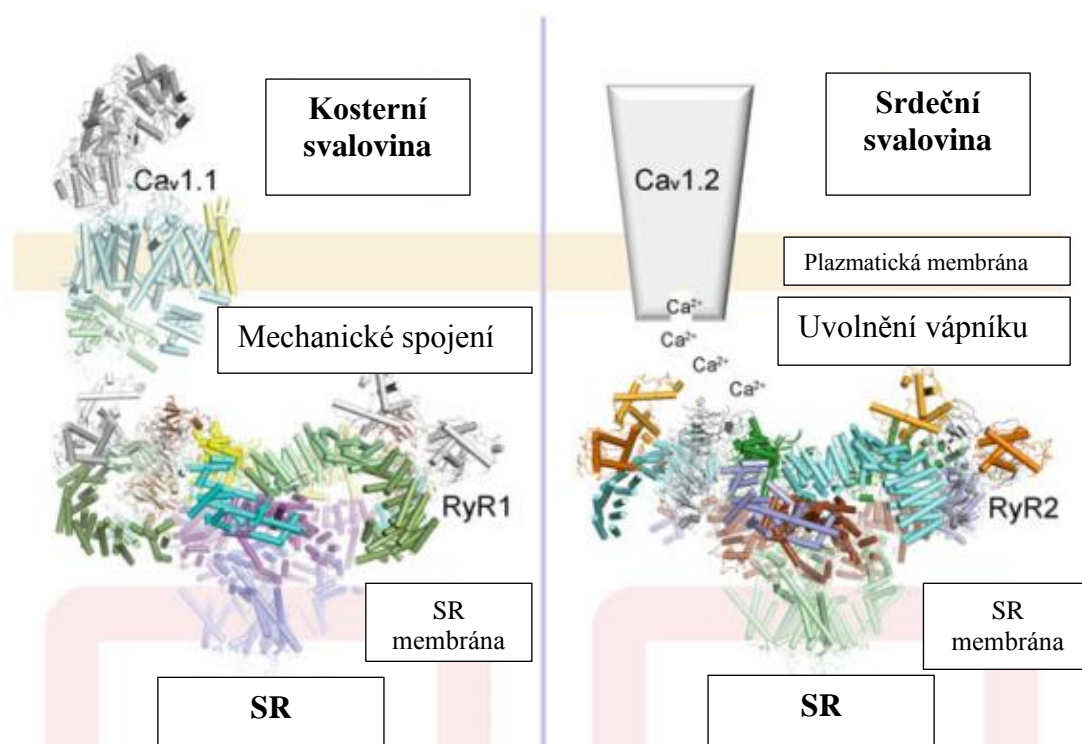
Koncentrace intracelulárního vápníku sestavuje 0,1 μM . Oproti tomu koncentrace extracelulárního vápníku ve volné ionizované formě je vyšší, a je roven 1,1–1,3 μM . Porušení daných limitů je nebezpečné a může vést k buněčné smrti (Wongdee et al., 2019).

3.3.2 Svalová kontrakce

Vápník je nezbytným kationtem, který potřebují cytoskeletální proteiny a svalová vlákna pro uskutečnění stahu a relaxace svalů. V zachování intracelulárního Ca^{2+} se podílí membránové proteiny na endoplazmatickém nebo sarkoplazmatickém retikulu, plazmatická membrána a cytosolické kinázy, kam patří proteinkináza C (Rajagopal & Ponnusamy, 2017). Více než jedna pětina objemu svalů je tvořena proteiny, kterými jsou aktin a myozin. Koncentrace vápenatých kationtů v sarkoplazmě je při klidovém stavu svalu 10^{-8} až 10^{-7} mol/L (Murray, 2003).

Svalová kontrakce představuje mnohoúrovňový mechanismus, ve kterém se také účastní Ca_v kanál a ryanodinový receptor. RyR je situován na sarkoplazmatické nebo endoplazmatické membráně, přičemž ve svalové kontrakce přijímají účast dvě izoformy RyRu: RyR1 a RyR2. Úkolem RyRu je vypouštění iontů Ca^{2+} z intracelulárních zásob při spřažení excitace s kontrakcí. Jeho aktivace nastává po depolarizaci plazmatické membrány a spuštění Ca_v kanálů. Poté následuje relaxace svalu převodem vápenatých kationtů přes SERCA do sarkoplazmatického retikula. U kosterního a srdečního svalu se rozlišuje izoformy kanálů a receptorů a způsob aktivace. Mechanismus kontrakce kosterního svalu je zabudován na základě tzv. „mechanické spojky“, kde $\text{Ca}_v1.1$ kanál po membránové depolarizaci mění svoji konformaci a aktivuje RyR1 (Wu et al., 2017). To znamená, že u kosterních svalů $\text{Ca}_v1.1$ nevystupuje jako vápenatý kanál, ale aktivuje vypouštění vápníku z intracelulárních rezerv neboli funguje jako napěťový senzor pro spřažení excitace s kontrakcí (Flucher & Tuluc, 2017). V případě srdečního svalu tok vápníkových iontů teče přes $\text{Ca}_v1.2$ kanál, což vyvolá aktivaci RyR2. Daný děj se nazývá CICR (calcium induced calcium release) (Wu et al., 2017) (viz Obrázek č. 3).

Vápník způsobuje kontrakci a relaxaci svalů, základem čehož je oscilace intracelulárního vápníku ve svalových buňkách. Účast vápníkového iontů ve stahu srdečního svalu spočívá v tom, že po depolarizaci plazmatické membrány dochází k otevření vápníkového kanálu typu L (DHPR). Přes daný kanál projde malé množství vápníku, a to vyvolá výstup zásob vápníku z sarkoplazmatického retikula přes ryanodinové receptory do cytosolu. Následkem vysoké koncentrace Ca^{2+} je jeho spojení s troponinem C a zahájení kontrakce svalu (Gorski et al., 2017). Impuls k aktivaci kontrakce myokardu začíná v sinoatriálním uzlu, kde jsou buňky schopné depolarizace přítokem Na^+ (Rajagopal & Ponnusamy, 2017). Akční potenciál myokardu začíná poklesem iontů K^+ a rapidním zvýšením Na^+ iontů, dochází také ke změně membránového potenciálu z -90 mV do $+10$ mV. Následuje krátká repolarizace, po které nastupuje fáze plató, kde se udržuje depolarizace a prodlužuje se akční potenciál zvýšením membránové propustnosti pro ionty Ca^{2+} . Na konci fáze dochází k proudu iontů sodíku do buňky pomocí Na^+ - Ca^{2+} výměníku, při kterém tři ionty Na^+ jsou vyměněny za jeden iont Ca^{2+} , který teče ven. V další fázi se Ca^{2+} kanály uzavírají a proudy Na^+ vyvolávají repolarizaci (Pinnel et al., 2007). Langmeier a kol. (2009) píšou, že k aktivaci Ca^{2+} kanálů v sarkoplazmatickém retikulu dochází zvýšením množstvím vápenatých iontů v cytosolu. Vlastní kontrakce myokardu je dána tokem Ca^{2+} iontů z retikula do cytosolu přes otevřené vápenaté kanály. Dominantní typ Ca^{2+} kanálu ve fázi plató je L-typ. Při relaxaci dochází k opačnému ději, kde se 85 % iontů Ca^{2+} pumpuje prostřednictvím SERCA z cytosolu do retikula. Zbýlých 15 % teče do extracelulárního prostředí Na^+ - Ca^{2+} výměníkem.

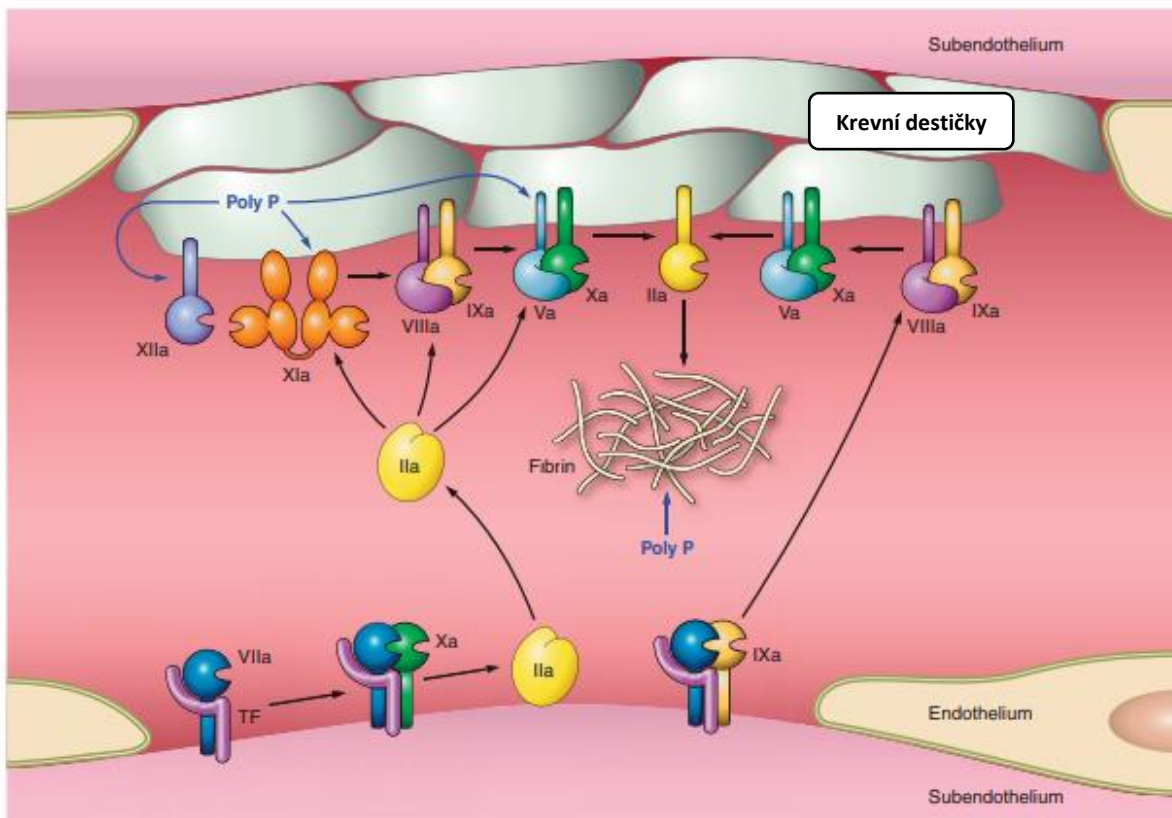


Obrázek č. 3: Pracovní modely aktivace RyR1/2 pomocí $\text{Ca}_v1.1/1.2$ (Upraveno a převzato od Wu et al., 2017)

3.3.3 Sražení krve

První návrhy o tom, že se vápníkové ionty účastní v konverzi protrombinu na trombin, bylo zmíněno v roce 1892 (Spronk et al., 2003). Vápenaté kationty jsou významnou součástí srážení krve, kde díky jejich spoluúčasti dochází k aktivaci faktorů IX, VIII a X, které se podílí na tvorbě fibrinových vláken (Langmeier et al., 2009). Další rolí vápníkového iontů je účast v přeměně protrombinu na trombin a tvorba kofaktoru, který představuje komplex Ca^{2+} s faktorem V (Theobald, 2005).

Sražení krve představuje řetězový systém aktivace enzymů nebo srážecích faktorů. Výsledkem je přeměna protrombinu na trombin a aktivace fibrinu. Koagulační mechanismus zahrnuje dva systémy, které se dělí na vnitřní a vnější (Theobald, 2005). Cesty obou systémů směřují k aktivaci faktoru X (Palta et al., 2014). Princip vnitřního systému je založen na kontaktu kolagenu s neaktivním faktorem XII, který se pak mění na aktivní formu faktor XIIa (Theobald, 2005). Dále tato reakce vede k aktivaci faktoru XI, přičemž faktor XI může být aktivován přímo trombinem (IIa) (Spronk et al., 2003). U vnějšího systému koagulace klíčovou molekulou začínající proces srážení krve je tkáňový faktor, který reaguje s faktorem VII. Tím se obrací faktor VII na jeho aktivní formu (TFVIIa). Přičemž pro jejich interakci je vyžadován vápenatý kationt (Theobald 2005, Palta et al. 2014). TFVIIa aktivuje faktory IX a X (Palta et al., 2014). To dovoluje produkovat protrombinázový komplex spojením faktorů Va a Xa. Daný komplex mění protrombin na trombin. Současně trombin mění faktory V a VIII (kofaktorem FIXa) na aktivní formy, čímž podporuje produkci FXa na povrchu krevních destiček. Na buněčné membráně, ve které se proběhla expozice fosfatidylserinu, nastává převod faktoru X na FXa, a to pomocí komplexu FIXa a FVIIIa. Aktivní faktory X a V spolu vytvářejí fibrinová vlákna (Versteeg et al., 2013). Takovým postupem se formuje více trombinu (FIIa), který aktivuje tzv. faktor stabilizující fibrin (faktor XIII). Dochází k vzniku fibrinových polymerů (Palta et al., 2014). Výsledkem vytváření trombinů je tvorba inhibitoru TAFI, který chrání molekulu fibrinu (Spronk et al., 2003). Aktivované destičky navíc produkují polyfosfáty (Poly P), které mohou podpůrně stimulovat aktivaci faktorů XII, V a XI (Versteeg et al., 2013) (viz Obrázek č. 4).



Obrázek č. 4: Koagulační kaskáda (Upraveno a převzato od Versteeg et al., 2013)

V procesu koagulace je důležitý fosfolipidový povrch, na kterém se uskutečňuje mechanismus „flipflop“. Je to děj, který se obrací molekulu fosfatidylserinu z vnitřního listu buněčné membrány na vnější. Začíná tím koagulace, která je vzbuzená tkáňovým faktorem. Krevní destičky pak navazují na trombinový receptor. Tím, že došlo k expozici negativně nabitých fosfolipidů, se vytváří komplex s faktorem IXa, kofaktorem VIIIa a Ca^{2+} , a také protrombinázový komplex s faktorem Xa, kofaktorem Va a Ca^{2+} na fosfolipidovém povrchu (Spronk et al., 2003).

3.3.4 Krevní tlak

Nízká hladina iontů vápníku v krvi může způsobovat změnu krevního tlaku, a to přes mechanismus zvýšení objemu cév a vazokonstrikci, která se řídí vápníkovým iontem v buňkách cévní hladké svaloviny. Při nedostatku vápníku dochází k zvýšení parathormonu, který zvyšuje ionty vápníku v plazmě, což vede k vazokonstrikci a ke zvýšení krevního tlaku. Kromě parathormonu se zvyšuje i hladina kalcitriolu, a to buď přímo, nebo působením parathormonu. Narůst jeho hodnot také vede k zvýšení krevního tlaku (Villa-Etchechogoyen et al., 2019).

3.4 Vápník jako buněčný posel

Buněčná signalizace slouží pro přenášení informace z povrchu membrán do určitých částí uvnitř buněk. Vápníkové signály mají širokou škálu působení, tudíž může být účinnost vápenatých iontů pozorována jak v malých oddílech endomembranového systému buňky, tak i v cytosolu a organelách (mitochondrie, jádro) (Berridge et al., 1999). Koncentrace Ca^{2+} v cytosolu je mnohem menší a sestavuje 50–200 nM oproti extracelulární koncentraci Ca^{2+} , která je rovna 1–2 mM (Carafoli & Lim, 2009). Existuje několik podnětů, které mohou vyvolat vápníkovou signalizaci, a to je elektrické, mechanické a hormonální podněty. Důsledkem je vystup Ca^{2+} z intracelulárního prostředí do cytosolu nebo vstup přes plazmatickou membránu. Uvolnění vápenatého kationtu z endoplazmatického retikulu je prováděno pomocí druhého posla inositolu 1,4,5-trifosfátu (IP3). Daný posel je vyvinut následkem toho, že hormon se naváží na receptory spřažené s G-proteinem (GPCRs) (Bootman, 2012).

Endoplazmatický retikulum je organela, která je považována za největší zásobárnu intracelulárního Ca^{2+} , u svalových buněk je to sarkoplazmatický retikulum (Bagur & Hajnoczky, 2017). Jakmile se v cytoplazmě zvyšuje obsah vápenatých kationtů, vede to pak ke spouštění určitých nástrojů pro jeho snížení. Pro regulování koncentrace Ca^{2+} uvnitř buňky jsou používány kanály, pumpy, cytosolické pufrý (Bootman, 2012). Bootman a Bultynck (2020) tvrdí, že mezi vnější faktory, které podněcují buňku ke zvýšení Ca^{2+} v cytosolu, patří: teplota, změna pH, růstové faktory, hormony, neurotransmitery, osmotické změny, mikrobiální invaze, cytotoxická činidla.

3.4.1 Vápenaté kanály, pumpy a mechanismy

Pro zachování správného poměru iontů Ca^{2+} a přenos signálu jsou nutné nástroje a systémy pro jeho uskutečnění (Carafoli & Lim, 2009). Transport vápenatých kationtů je prováděn pomocí pump a kanálů typu: ovládané napětím, ligandou, koncentrací vápníku. Čas, který je určen pro jejich otevření a zajištění vstupu a výstupu Ca^{2+} , je krátký (Berridge et al., 1999). Pumpy zúčastněné v přenosu vápníkových iontů jsou Na^+ - Ca^{2+} výměník (NCX), PMCA, které vykonávají svou činnost v plazmatické membráně, SERCA pumpa uvnitř buňky a SPCA pumpa (Carafoli & Lim, 2009).

Napětově řízené Ca^{2+} -kanály (VGCC)

Mnoho fyziologických dějů souvisí s napětově řízenými vápníkovými kanály, což jsou membránové proteiny. K jejich spuštění dochází při změně membránového potenciálu. Napětově řízené vápníkové kanály se řadí mezi napětově řízené iontové kanály (Wu et al., 2017). Jejich úkolem je řízení kontrakce-relaxace svalů, sekrece, regulace genů, která je založena na přeměně elektrických signálů vzrušivých buněk na příslušný buněčný děj (Rajagopal & Ponnusamy, 2017). Mezi dané děje patří: uvolnění neurotransmiterů, spuštění Ca^{2+} závislých enzymů (Wakamori & Imoto, 2009).

Hlavní Ca_v kanály vyskytující se u savců jsou Ca_v1 , Ca_v2 , a Ca_v3 kanály. Při vysokém napětí se aktivuje Ca_v1 kanál, přes který dlouhodobě prochází velké iontové proudy, tudíž jsou pojmenované jako L-kanál. Naproti tomu pro Ca_v3 kanál je charakteristické nízké napětí a malý

jednokanálový proud označený jako T-kanál. V závislosti na současných vlastnostech vápníkového iontu Ca_v2 kanál může představovat P/Q typ, R typ nebo N typ (Wu et al., 2017). Podle Wakamori a Imoto (2009) je Ca_v1 kanál zapojen do genové exprese a konkrétně způsobuje její změnu. Ca_v3 kanál je významný pro vzbuzení rytmické aktivity. Ca_v2 kanály jsou zastoupeny v mozku a jsou zapojeny do uvolňování neurotransmiterů.

Napěťově řízené vápenaté kanály jsou citlivé na depolarizaci membránového potenciálu. Jako odpověď se elektrickým podnětem otevírají póry vápník–selektivního kanálu (Flucher & Tuluc, 2017). Vápenaté kationty vstupem do buňky napěťově řízenými vápenatými kanály zahajují různé buněčné děje v roli druhých posílů elektrických signálů (Catterall, 2011).

Kanály regulované koncentrací

V příčně pruhovaných svalech vápenaté kationty vytékají do sarkoplazmatického retikula vápenatým kanálem, který se jmenuje ryanodinový receptor (RyR). V luminální a cytoplazmatické doméně molekuly RyRu se umísťují místa zvaná jako L-místo a A-místo, které aktivují ionty vápníků. Pak synergickým tokem dochází k aktivaci kanálu. Kromě toho v cytosolové doméně existují další dvě místa, I1 a I2, která jsou významná inhibičními vlastnostmi a afinitou k iontům Ca^{2+} (Laver, 2018). Většinu kanálu tvoří N-terminální doména (90 %) a ostatních 10 % objemu tvoří transmembránová doména (Kushnir et al., 2018). Při spřažení excitace s kontrakcí představují kanály RyR hlavní dráhu uvolnění vápenatých kationtů (Fill & Copello, 2002). V případě kosterních svalů je to RyR1 (Chen & Kudryashev, 2020), u srdeční svaloviny je to RyR2 (Laver, 2018). Existuje ještě třetí typ RyRu – RyR3, který byl poprvé objeven v mozku. Dané tři izoformy RyRu mají společný princip aktivace a inhibice, kde aktivace kanálů nastává při změně koncentrace iontů Ca^{2+} na mikromolární veličinu, inhibice na milimolární (Kushnir et al., 2018). Mutace v genu RyR1 vyvolává geneticky podmíněné onemocnění jako RyR1 asociovaná kongenitální myopatie, vnímavost k maligní hypertermii (Witherspoon & Meilleur, 2016). Proteiny, které pocházejí z cytoplazmy a lumenu sarkoplazmatického retikula, regulují spuštění kanálu RyR1 (Chen & Kudryashev, 2020).

Kanál SOCC (store-operated calcium channel) uskutečňuje příliv iontů Ca^{2+} . Vyskytuje se v neexcitovaných buňkách. Poruchy funkcí kanálu SOC jsou zdrojem roztroušené sklerózy, alergie, zánětlivých onemocnění střev, rakoviny (Rajagopal & Ponnusamy, 2017).

Kanály řízené ligandou

V plazmatické membráně se nachází specifické receptory, které po navázání hormonů aktivují enzymy. Zásluhou těchto enzymů dochází k hydrolýze fosfolipidů a vytvoření inositolu 1,4,5-trifosfátu (IP3), která představuje fosfoinozitolovou dráhu. IP3 difuzí proniká dovnitř buňky a naváže se na IP3 receptory, dochází k otevření kanálu a přechodu vápníkových iontů z ER/SR do cytoplazmy. Otevření IP3 receptorů je řízeno množstvím Ca^{2+} v cytosolu (Bootman et al., 2002).

SOCE

SOCE je mechanismus, který regeneruje úroveň Ca^{2+} na apikální straně ER po přechodu a vyčerpání iontů vápníku ze zásob ER do cytosolu. Základem je využívání STIM proteinů a kanálů ORAI (Agellon & Michalak, 2017). U savců existují 3 typy ORAI: ORAI1, ORAI2,

ORAI3, které spolu tvoří kanál CRAC (Zheng et al., 2018). STIM je transmembránový protein, který je citlivý na snížení množství Ca^{2+} v ER. ORAI je zodpovědný za vytvoření ORAI Ca^{2+} kanálu v plazmatické membráně (Bootman & Bultynck, 2020). V důsledku vyčerpání lumenálního Ca^{2+} v ER nastává oligomerizace STIMu a vytvoření komplexu s ORAI. Daný komplex zvyšuje příliv Ca^{2+} z extracelulárního prostředí (Agellon & Michalak, 2017). K interakci STIMu a ORAI dochází tak, že při ztrátě vápníkových iontů ze struktury STIMu dochází k novému uspořádání molekuly, kde C-konec STIMu se obrací k ORAI kanálům (Bootman & Bultynck, 2020).

SERCA pumpa

SERCA má za funkci korigovat množství Ca^{2+} v sarkoplazmatickém retikulu tím, že pumpuje vápníkové ionty z cytosolu do lumenu sarkoplazmatického retikula svalů (Gorski et al., 2017) a do endoplazmatického retikula nesvalových buněk (Aguayo-Ortiz et al., 2020). To znamená, že SERCA je vnitrobuněčným membránovým proteinem, který pomocí volné energie způsobené hydrolýzou ATP provádí aktivní transport iontů Ca^{2+} (Tadini-Buoninsegni et al., 2018). Tato energie je využívána zejména na změnu struktury určitých částí molekuly SERCA pro provádění transportu (Aguayo-Ortiz et al., 2020).

SERCA je hlavní pumpou v kosterních svalech, která vyvolává relaxaci svalů po kontrakci tím, že zpět transportuje vápenaté ionty do lumenu sarkoplazmatického retikula. Pomocí malých membránových proteinů fosfolambanu (PLN) a sarkolipinu (SLN) je prováděna regulace činnosti SERCA, kde SLN zasahuje do práce SERCA během procesu kontrakce svalů kosterních a srdečních síní a PLN do srdečních svalů. Takovým způsobem je realizována homeostáza vápníku i proces kontrakce a relaxace svalů. Dané dva proteiny představeny jako inhibitory SERCA, kde je jejich regulační činnost založena na snížení afinity SERCA k iontům Ca^{2+} (Glaves et al., 2020).

PMCA pumpa

Hlavním úkolem PMCA pumpy je udržení bilanční koncentrace vápenatých kationtů v cytosolu, zejména regulace množství tak, aby se udržela vhodná nízká úroveň (Carafoli & Lim, 2009). Pro PMCA je charakteristická vysoká afinita k Ca^{2+} , ale nízká transportní schopnost iontů Ca^{2+} (Brini & Carafoli, 2011). Při nedostatečném projevu a nízké funkci PMCA může nastat apoptóza či nekróza buňky (Bruce, 2018). Existují různé izoformy PMCA, které jsou zodpovědné jak za transport velkého množství iontů Ca^{2+} , tak i za omezenou vápníkovou signalizaci v malých kompartmentech. Odchyly ve funkci izoformů PMCA mohou být příčinou řady onemocnění, jako je hypertenze, nízká kostní hustota, neplodnost mužů, ztráta sluchu (Strehler, 2013).

3.4.2 Proliferace a diferenciaci buněk

Keratinocyty jsou buňky, které se nacházejí v epidermu. Slouží jako bariéra proti chemickým látkám a negativnímu vlivu okolního prostředí. Významnou účast v diferenciaci těchto buněk hraje vápenatý kationt. Zvýšení extracelulární koncentrace Ca^{2+} , vede k růstu intracelulární hladiny vápenatého kationtu. To spouští adhezi mezi buňkami

a změnu genové exprese. Adheze mezi sousedními buňkami se uskutečňuje pomocí E-kadherinu. S jeho pomocí vznikají regulátory diferenciací a přežívání buněk. Tyto regulátory se nazývají fosfatidylinositol-3-kináza (PI3K) a fosfolipáza C (PLC γ 1). Mechanismus vápníkové signalizace je založen na růstu extracelulárního Ca²⁺, tím se aktivuje fosfolipáza C (PLC) a následně začne produkce IP3. Přechodný tok Ca²⁺ je umožněn za užití IP3, který se váže na receptor IP3R a uvolňuje intracelulární Ca²⁺. Golgiho aparát a ER jsou zásobárnami Ca²⁺, které zajišťují mobilizaci vápníkového iontu. Transport je prováděn přes kanály SOC, navíc je zapojen CRAC, který pravděpodobně podporuje nepřetržitý tok Ca²⁺ během zvýšení extracelulární koncentrace Ca²⁺. Aktivita SOC je zprostředkována pomocí kanálů TRPC1 a TRPC4 (Tu & Bikle, 2013). CaSR přímo souvisí s diferenciací. S jejich pomocí jsou keratinocyty schopny cítit změny v koncentracích vápníku, podílí se na jejich mobilizaci (Elsholz et al., 2014), aktivují genové markery diferenciací TG1 a involucrin. Jestliže se potlačuje aktivita CaSR, nastává narušení komunikace mezi intracelulárním a extracelulárním vápníkem, což vede k zabránění proliferace a diferenciací. Další možnost provádění diferenciací, kde klíčovou složkou je CaSR, probíhá přes dráhu Rho A, kde se zúčastní filamin A, RhoA a E-kadherin (Tu & Bikle, 2013).

Výkyvy od normální funkce VGCC se asociují se zhoubným bujením. Například v případě L-typu je prokázána souvislost mezi proliferací a migrací rakovinných buněk. Rakovina endometria je pojena s L-kanálem, kde se estrogen podílí na jeho expresi a otevření kanálu pro vnik Ca²⁺ a také se aktivují určité dráhy vedoucí k proliferaci (Varghese et al., 2019).

Poruchy SERCA2 mohou být příčinou zhoubných vývoju kolorektálních buněk. Proliferace a migrace nádorových buněk je pozorována při jeho zvýšené expresi přes signální dráhy MAPK a AKT. Existuje velká souvislost mezi SERCA a množstvím Ca²⁺ v ER. Thapsigargin je považován za látku, která inhibuje proliferaci. Zabraňuje funkci SERCA, což vede k vyprázdnění zásob Ca²⁺ v ER. U rakovinných plicních buněk byla pozorována zvýšená funkce IP3R, kalretikulinu a snížená exprese SERCA2b, vedoucí ke sníženému obsahu vápenatých kationtů v ER (Varghese et al., 2019).

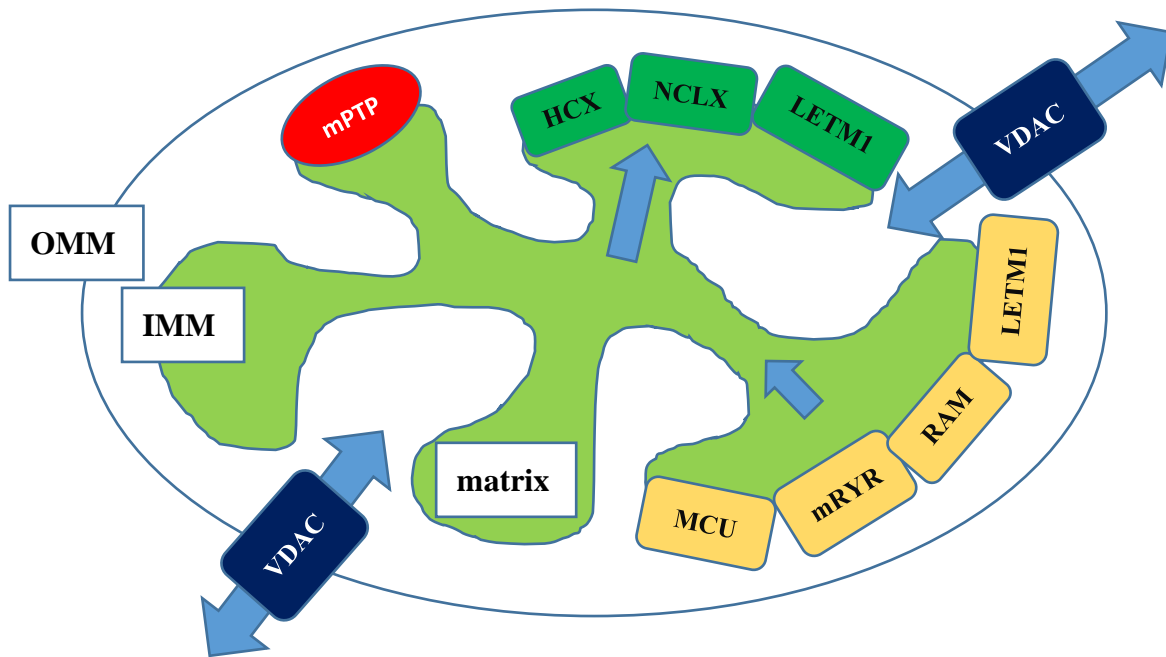
3.4.3 Mitochondriální vápník

Mitochondrie je významnou organelou, která zajišťuje energii buňce. Vápenatý kationt se podílí na daném ději, také je považován za klíčovou složkou v buněčné smrti (Takeuchi et al., 2015). Prostřednictvím signálů vápníku se mitochondrie pohybuje podél mikrotubulů a zajišťuje umístění v částech s vysokou koncentrací Ca²⁺. Tímto způsobem je zabezpečena produkce ATP v místech s nedostatkem energie (Bagur & Hajnóczky, 2017). Kromě toho je transport vápenatého kationtu do mitochondrie nutný pro zajištění vnitrobuněčné Ca²⁺ homeostázy (Belosludtsev et al., 2019).

Nejprve vápenaté kationty vstupují do matrixu přes vnější membránu mitochondrií (OMM), které obsahují napětově závislé aniontové kanály (VDAC). Přes dané kanály je prováděn příliv iontů Ca²⁺ do mezimembránového prostoru (IMS). Poté následuje přesun přes vnitřní membránu mitochondrií (IMM), který se uskutečňuje pomocí mitochondriálního Ca²⁺ uniporteru (MCU), mitochondriálního ryanodinového receptoru (mRyR), mechanismu

„rapid mode“ (RaM) a proteinu zvaném „LETM1“, jehož úloha je doposud studována (Naumova & Šachl, 2020). Vstup iontu Ca^{2+} přes uniporter vede k aktivaci dehydrogenáz, které zvyšují poměr NADH/NAD a úroveň ATP (Takeuchi et al., 2015). Mechanismus RaM se aktivuje při nízkých hladinách Ca^{2+} , konkrétně 50–100 nM. Takovým způsobem RaM přenáší nízké dávky iontů Ca^{2+} , ale s vyšší frekvencí (Belosludtsev et al., 2019). V době, kdy je uniporter MCU neschopen vstřebávat Ca^{2+} a zabezpečit energetický metabolismus buňky, RaM vystupuje jako nástroj k regulaci podílu syntézy ATP (Xu et al., 2016). Receptor mRyR hraje roli přenašeče. Navíc se předpokládá, že by mohl hromadit ionty vápníku a případně zajišťovat jejich odtok při mitochondriální zátěži (Naumova & Šachl, 2020). Molekula LETM1 se skládá z C-terminální domény, která obsahuje dvě oblasti EF-ruky, a N-terminální domény nesoucí „protein kináza C fosforylační místo“. LETM1 se podílí na přenosu iontů Ca^{2+} do mitochondrie, přitom je prováděna výměna vápenatého kationtu za iont H^+ . Takovým způsobem je předpokládáno, že LETM1 působí jako $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ antiporter. Při příliš vysokých hladinách Ca^{2+} LETM1 spolu s $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ výměníkem vytěsňuje vápníkové ionty z mitochondrie (Li et al., 2019).

Ionty vápníku jsou vypouštěny z mitochondrie pod kontrolou $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}/\text{Li}^+$ výměníku (NCLX), $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ výměníku (HCX), mechanismu mPTPC (mitochondrial permeability transition pore complex), a LETM1. Pro vzrušivé tkáně je charakteristický výměník NCX, kdy HCX je naopak přítomen v nevzrušivých tkáních. NCLX je unikátním transportérem, protože je schopen provést výměnu sodíkového iontu nebo lithného za vápenatý kationt. Obecně $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ výměníky jsou významnými nástroji ve vápníkové homeostáze během přechodných proudů Ca^{2+} , protože jejich molekula se vyznačuje nízkou afinitou a vysokou kapacitou (Naumova & Šachl, 2020). Z fyziologického pohledu je výměník NCLX nezbytný pro uskutečnění Ca^{2+} signalizace mezi mitochondrií a plazmatickou membránou, ale také pro regulaci sekreci inzulínu v β -buňkách (Nita et al., 2012). NCLX vyměňuje 1 molekulu vápníku za 3 molekuly sodíku (Pathak & Trebak, 2018), když se u HCX předpokládá vystřídání 1 molekuly vápníku za 2 molekuly vodíku. Míra vytlačení Ca^{2+} přes HCX závisí na pH gradientu, kde při jeho růstu dochází ke snížení odtoku vápenatých kationtů. Základním způsobem odtoku Ca^{2+} z mitochondrie při patofyziologiích je pomocí mPTP. Je to kanál, který slouží pro přenos molekul mezi mitochondriálním matrixem a cytoplazmou. Jeho otevření závisí na množství volných iontů Ca^{2+} , kde při zatížení mitochondrie danými ionty dochází k jejich vypouštění do cytoplazmy (Naumova & Šachl, 2020). Přitom mPTP v otevřeném stavu vykazuje vysokou propustnost IMM pro ionty a malé molekuly. Daná vlastnost může mít vliv na membránový potenciál mitochondrie, homeostázu vápníku, produkci ROS a ATP, buněčnou smrt. V důsledku otevření kanálu do matrixu mohou dostat metabolity, které brzdí produkci ATP (Pérez & Quintanilla, 2017) (viz Obrázek č. 5).



Obrázek č.5: Transportní systém Ca^{2+} v mitochondriích (Upraveno a převzato od Naumova & Šachl, 2020)

Vápenatý kationt v mitochondriích je nutný pro změnu aktivity enzymu cyklu tříkarboxilových kyselin (TCA), který vede k produkci ATP (Rizzuto et al., 2012). Tudiž Ca^{2+} interaguje s reaktivními formami kyslíku (ROS), jako je superoxid, hydroxylový radikál, peroxid vodíku. ROS představuje signální molekulu, která při mírné hladině ovlivňuje proteiny, lipidy, polynukleotidy, díky čemuž přispívá k aktivaci fyziologických dějů (Görlach et al., 2015). Jeden ze zdrojů generace ROS je mitochondriální elektronový transportní řetězec, kde zvýšení iontů Ca^{2+} je nutné pro aktivaci enzymů vytvářejících ROS a volné radikály (Gordeeva et al., 2003).

Mitochondriální vápníková signalizace má svoji úlohu v procesu autofagie. Mitochondriální vápník reguluje děj zvaný mitofagie, který patří k specifickým procesům autofagie. Představuje zbavení mitochondrií poškozených nebo vadných. Existují nemoci spojené s poruchami ve funkci mitochondrií, které jsou způsobeny mutacemi v mitochondriální DNA (Granatiero et al., 2017). Podle vyšetření provedených Granatiero et al. (2016), v případě mitochondriální poruchy s mírně projevovanými znaky nemoci, lze přes mitofagii zvýšit mitochondriální obrat a tímto způsobem snížit špatné fungování organely. K danému efektu dochází při snížení vstřebávání mitochondriálního Ca^{2+} , který zvyšuje buněčné katabolické procesy pomocí mechanismu závislém na AMPK.

Omezená regulace vápenatých kationtů může vést k jeho zvýšenému množství nebo k poruchám vstřebávání, následkem čehož je otevření mPTP (Pérez & Quintanilla, 2017).

Zánik buňky

Hlavní organelou v buněčné smrti je mitochondrie. V rámci apoptotických a proapoptotických signálů mitochondrie interaguje s ER, Golgiho aparátem, lysozómem, jádrem (Kroemer et al., 2007). Když dochází k narušení systému kontroly nad množstvím vápenatých iontů, nastává smrt buňky v důsledku zatížení buňky. U různých drah apoptózy vyskytují vedoucí složky tohoto procesu, jako mPTP, proteiny rodiny Bcl2, VDAC1 kanál.

Existuje několik typů buněčné smrti, z nichž u „nekrózy způsobené mPTP“ a „apoptózy způsobené mitochondrií“ dochází k propojení mitochondriálního transportu Ca^{2+} a Bcl2 proteinů (Naumova & Šachl, 2020). Buněčná smrt typu nekrózy je nepředvídatelná a není geneticky předurčená. Má vlastnosti vyvolávat patologické ztráty buněk a napomáhat vývinu zánětů, které pak mohou vést ke vzniku nádorů (Kroemer et al., 2007). Nekróza způsobená mPTP je způsobena odezvou neuronů a kardiomyocytů na neurodegenerativní procesy nebo na ischemii (Lamb, 2020). Nerovnoměrný transport iontů Ca^{2+} přes plazmatickou membránu způsobuje přebytek vápenatých kationtů, které se následovně absorbují do mitochondrie. V matrixu mitochondrie se vytváří prostředí s vysokou koncentrací Ca^{2+} , kde vápenaté kationty interagují s cyklofilinem D a otevírají póry mPTP. Kromě toho se na aktivaci mPTP může podílet ROS a volné mastné kyseliny vytvořených z důvodu zvýšení Ca^{2+} . Otevřený mPTP způsobuje ztrátu membránového potenciálu mitochondrie a uvolnění Ca^{2+} . Při dlouhém otevřeném stavu mPTP dochází k prudkému přítoku rozpuštěných látek (Hajnóczky et al., 2006). Vzniklý mitochondriální otok může vést k apoptóze z důvodu prasknutí OMM a uvolnění cytochromu C (Pérez & Quintanilla, 2017). Po osvobození cytochromu C nastává řetězová reakce, kde se cytochrom C stává součástí apoptozomu, který aktivuje kaspázu-9. Dále se spouštějí kaspázy-3 a -7 vedoucí ke zničení buňky (Shoshan-Barmatz et al., 2018).

Mezi mechanismy buněčné smrti patří excitotoxicita, která je způsobená nekontrolovatelným přílivem Ca^{2+} do neuronů pomocí receptorů pro N-methyl-d-aspartátu a glutamátu. Zatím dochází ke spouštění degradačních enzymů, ztrátě redoxní rovnováhy, a nakonec k otevření mPTP, která pravděpodobně vyvolává depolarizaci a buněčnou smrt (Bernardi et al., 2015).

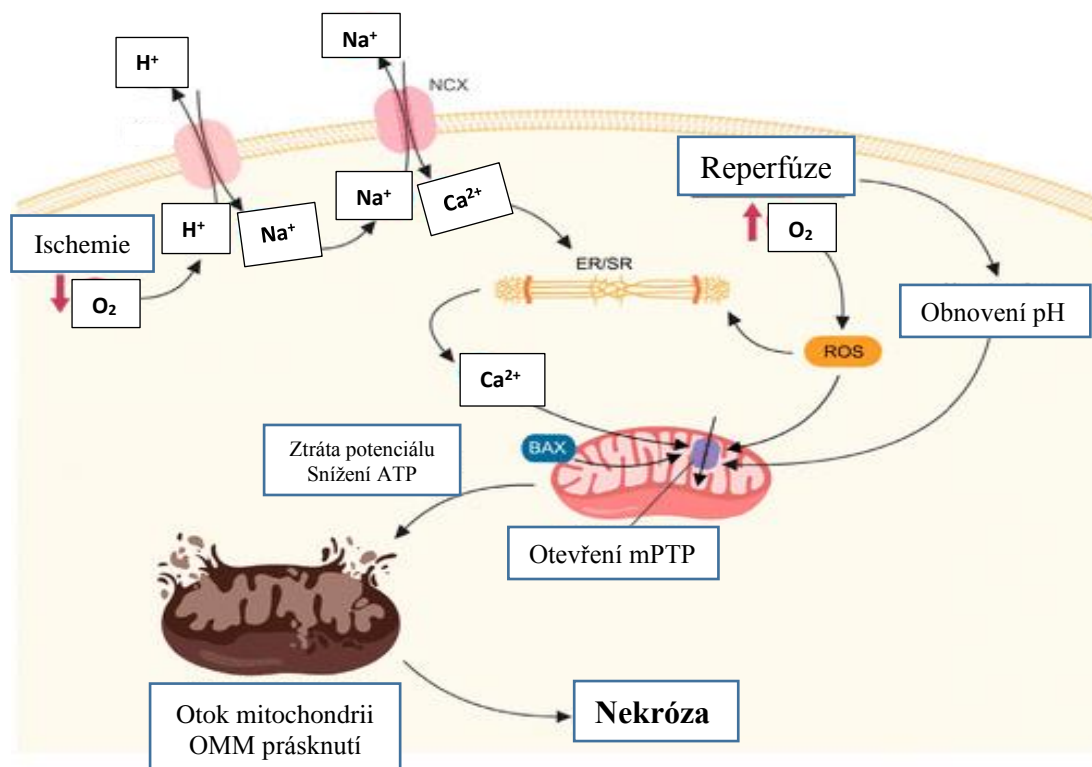
Proteiny Bcl2 (B-cell lymphoma) rodiny se podílejí na apoptóze. Obsahuje v sobě jak proapoptotické, tak i antiapoptotické proteiny, které spolu balancují. Bcl2 proteiny mohou regulovat intracelulární systém transportu Ca^{2+} , kde působí na IP3 receptory, ryanodinové receptory a mitochondriální přenos vápníku. Daná vlastnost dělá Bcl2 proteiny významnými regulátory Ca^{2+} homeostázy. Při apoptóze zprostředkovanou mitochondrií se Bcl2 zaměřuje především na VDAC1, které se spolu i s hexokinázou podílí na regulování buněčné smrti (Naumova & Šachl, 2020). Proapoptotické proteiny rodiny Bcl2 především uskutečňují propustnost mitochondriální membrány (MMP), a to buď samostatně, nebo spolu s mPTP proteiny. MMP je stav, který vede k buňku k smrti pomocí různých mechanismů a nástrojů, kam patří katabolické hydrolázy, aktivatory katabolických enzymů. Když dochází k dlouhodobému uvolnění velkých dávek Ca^{2+} z ER, může to mít za výsledek aktivace MMP pomocí stresových signálů a vznik apoptózy (Kroemer et al., 2007). Kanál VDAC1 se přispívá k uvolňování apoptotických proteinů z mezimembránového prostoru (IMS). Úloha Ca^{2+}

spočívá v rozpoznání citlivosti buňky na apoptotický podnět a v podpoře uvolnění pro-apoptotických proteinů (Shoshan-Barmatz et al., 2018).

3.4.4 Onemocnění spojené s vápenatým kationtem

Ischemicko-reperfúzní poškození

Jedna z nabízených variant modelů zatížení buňky vápenatými kationty, se předpokládá zvýšení koncentrace Ca^{2+} v několika krocích. Ischemie způsobuje produkci kyseliny mléčné a zvýšení vnitrobuněčné acidózy. Pomocí iontového Na^+/H^+ výměníku přebytečné protony, což je H^+ , se vypumpují z buňky, a ionty Na^+ se naopak transportují dovnitř. Dále se do děje vstupuje $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ výměník, který uskutečňuje výměnu vzniklého přebytku Na^+ kationtů za Ca^{2+} . Následovný růst iontů Ca^{2+} v cytoplasmě vede k aktivaci ryanodinových receptorů a IP_3 receptorů, které uvolňují vápníkové ionty z ER/SR. Ionty vápníku se absorbují do mitochondrie. Takovým způsobem dochází ke zvýšení množství vápenatých kationtů v matrixu a otevření mPTP, přičemž k jeho aktivaci dochází při reperfúzi. Během reperfúze dochází k neutralizaci acidózy a tvorbě ROS. Výsledkem daného mechanismu je ztráta protonového gradientu napříč IMM, snížení syntézy ATP, příliv vody vedoucí k nabobtnání a prasknutí OMM (Del Re et al., 2019) (viz Obrázek č. 6).



Obrázek č. 6: Dráha mitochondriální nekrózy v případě ischemicko-reperfúzního poškození (Upraveno a převzato od Del Re et al., 2019)

Neurodegenerativní onemocnění

Porucha rovnováhy vápníkové homeostázy a ROS slouží jako základ faktorů vyvolávajících otevření mPTP, což je charakteristickým patologickým znakem pro onemocnění centrální nervové soustavy. V případě Alzheimerovy choroby vápníkovou homeostázu narušují amyloid β oligomery (Bernardi et al., 2015), která skončí výrobou ROS a následujícími reakcemi vedoucími k tvorbě aktivátoru apoptózy a MMP, aldehyd 4-hydroxynonenal (Kroemer et al., 2007). Huntingtonova choroba patří k nemocím způsobeným mutacemi, pro kterou je charakteristická vysoká citlivost k iontům Ca^{2+} s následným navázáním na aktivaci mPTP. Při zkoumání neuronů s mutovaným genem lze pozorovat zvýšené mitochondriální koncentrace Ca^{2+} , oxidační stres, poškození mtDNA. Amyotrofická laterální skleróza také patří mezi choroby způsobené mutacemi, konkrétně superoxid dismutázy 1. Mitochondrie transgenních myši vykazují řadu změn, jako jsou otoky, zvýšený ROS, poruchy respirace, fragmentace a snížená pufráční kapacita Ca^{2+} . Je předpokládáno, že otevření mPTP může být příčinou smrti neuronových buněk. U roztroušené sklerózy přetížení mitochondrie vápenatými kationty a energetické poruchy jsou příčinou snížení schopností axonů. V některých modelech Parkinsonovy choroby je vysoká citlivost k otevření mPTP považována za možnou příčinu neurodegenerace, kde také sledována změna hladiny uloženého Ca^{2+} . Z důvodu uvolnění dopaminu pod kontrolou L-typu kanálu je u dané nemoci významné harmonické propojení toků Ca^{2+} a celkové objemové možnosti ukládání Ca^{2+} (Bernardi et al., 2015).

Onemocnění spojené s mutací Ca^{2+} -senzitivních proteinů

Mutace různých částí RyRu má za následek zvýšení jeho exprese nebo snížení funkce. Při mutaci N4104K, R4496C a N4895D v C-terminální oblasti RyRu2 dochází ke změně mechanismu citlivosti vápenatých kationtů. V daném případě se snižuje prahová hodnota lumenální SR pro aktivaci RyRu2. Takovým způsobem dochází k uvolnění větších dávek Ca^{2+} . Obecně je mutace RyRu2 spojena s katecholaminergní polymorfni komorovou tachykardií, RyRu1 s maligní hypertermií (Bagur & Hajnóczky, 2017).

Aktivita SOCE může být silně pozměněna při mutacích STIM1. V případě mutace, zasahující do jeho funkce, konkrétně zvyšujících expresi, dochází k nepřetržité aktivaci SOCE. V závěru to končí zvýšením intracelulárního vápníku a porušením vápenaté homeostázy. V patologiích se to projevuje tubulární agregátní myopatií, kde převážná část mutací je lokalizována v oblasti EF-ruky STIM1 (Bagur & Hajnóczky, 2017). Dané onemocnění je vzácné a je charakterizováno bolestmi svalů a křečemi. Dále je to syndrom Stormorkena, což je dominantní autosomální choroba, pro kterou je typická mióza, trombocytopenia nebo trombocytopenie, duševní postižení, hypokalcemie, svalová únava, ichtyóza, asplenie (Morin et al., 2014). Pak Yorkův destičkový syndrom (York platelet syndrome), u kterého se objevují odchylky od normálu krevních deštiček a svalová slabost (Roman et al., 2018). V situace opačné, kdy mutace způsobuje redukci funkcí STIM1, se objevují onemocnění analogické nízké imunitě, autoimunním chorobám, svalové hypotonie, dysplazii pokožky. Dalším proteinem mutace, který ovlivňuje hladinu Ca^{2+} , je MICU1. Obvykle změna genetické informace MICU1 směřuje na snížení množství proteinů MICU1, která vede k růstu úrovně

mitochondriálního vápníku. Následkem je proximální myopatie, extrapyramidové poruchy hybnosti, unavenost, ospalost a snížená schopnost učení (Bagur & Hajnóczky, 2017).

Hypokalcemie

Ukazatele celkového vápníku v séru při hypokalcemii u novorozenců jsou menší než 2 mmol/L, ionizovaného vápníku je méně než 1,2 mmol/L (Jain et al., 2010). Hypokalcemie může být založena geneticky, vyvolána poruchami příštítných tělísek, autoimunním zničením, selháním metabolismu a funkcí vitamínu D, nebo také odolností vůči PTH. Dochází k neuromuskulární podrážděnosti, jako jsou záchvaty, svalové křeče, tetanie, necitlivost a brnění konečku prstů, včetně periorální části. Při závažných situacích může dojít k bronchospasmu a laryngospasmu. Chronická hypokalcemie se vyznačuje neurologickými poruchami, jako je kalcifikace mozkové kůry a malého mozečku, poruchy osobnosti, snížení intelektuální schopnosti, dystonie. Nemocní často mají suchou pokožku, lámavé nehty, u dětí lze sledovat zubní abnormality. Pokud hypokalcemie souvisí s hypoparathyreózou, objevují se příznaky, jako je ekzém, psoriáz, exfoliativní dermatitida, organické postižení mozku (Schafer & Shoback, 2016). Je důležité sledovat hypokalcemii u pacientů s hypoparathyreózou, pankreatitidou, s nízkou hladinou vitamínu D (Baird, 2011).

Hyperkalcemie

Obratným případem hypokalcemie je hyperkalcemie, která se projevuje zvýšeným množstvím vápenatých kationtů v krvi nebo tkáních. Může být vyvolána jak obecnými poruchami mechanismů, tak i lokálními, například nekrózou tkáně z důvodu selhání zásobení tepen, které končí hromaděním vápenatých solí (Theobald, 2005). Mezi další příčiny hyperkalcemie se uvádějí hyperparathyreózu, granulomatózní choroby, nadbytek vitamínu D, problémy s ledvinami, navíc při zhoubných nádorech a granulomatózních chorobách může být zvýšené množství vápníkového iontu z důvodu přestavby 25-hydroxyvitamínu D na 1,25-dihydroxyvitamín D (Baird, 2011), zvýšený transport Ca^{2+} z kostí, snížená glomerulární filtrace v ledvinách, zvýšená tubulární reabsorpce. U nemocných je sledováno snížení hmotnosti, žaludeční nevolnost, zvracení, slabost, svědivost, žízeň, zvýšení močení, v akutních případech selhání ledvin (Theobald, 2005).

Závěr

Vápník je prvek, který byl v minulosti aktivně používán pro výstavbu. S postupem času lidé začali odhalovat jeho úlohu v organismu. Je to makromolekula, která je obsažená v kostech ve formě fosforečnanu vápenatého, kromě toho je obsažen v extracelulárním a intracelulárním prostředí, kde je jeho hladina striktně kontrolována. V homeostáze vápníku v organismu jsou používány různé mechanismy a molekuly. V případě transcelulárního a intracelulárního transportu ve střevě jsou zapojeny TRPV6 kanál, vitamín D, kalbindin d9k, PMCA1b, NCX1. Dále homeostáza je prováděna reabsorpcí ledvinami a kostní regulací která je pod kontrolou hormonů. Takovým způsobem daný propojený systém umožňuje účinné kontrolování hladiny Ca^{2+} v organismu.

Významnou úlohou vápenatého kationtu v buňce je jeho role jako buněčného posla. Kanály, pumpy a mechanismy jako SOCE vystupují jako podpůrné součásti pro uskutečnění buněčné signalizaci. Vápenaté signály v mitochondrii se podílejí na produkci energie, která je využita buňkou. Pro transport v mitochondrii je použit komplexní systém, který přivádí a odvádí Ca^{2+} z matrixu a ven. Vápníková signalizace je využita v zániku buňky, v případě nekrozy přebytek Ca^{2+} v matrixu způsobuje otevření mPTP, následkem čehož je mitochondriální otok a smrt buňky. Nekontrolovatelný tok Ca^{2+} z ER aktivuje propustnost mitochondriální membrány, která zahajuje apoptózu. Navíc vápníkové kationty podporují spouštění proapoptotických proteinů. Některé mechanismy vápníkové signalizace zatím není kompletně odhalené, ale existující materiály ukazujících jeho vliv na buněčné procesy svědčí o významnosti daného prvku.

Byla zjištěna další stránka Ca^{2+} , která ukazuje na jeho účast ve fyziologických dějích. Vápenatý kationt se tak podílí na srážení krve, kde pomocí něj dochází k aktivaci některých faktorů, které jsou součástí řetězových reakcí vedoucích k tvorbě fibrinu. Dále může svým sníženým množstvím vést k nárůstu krevního tlaku, a to přes hormon PTH. Velkou kapitolou je jeho účast ve svalovém stahu a při relaxaci, kde je potřeba přítomnost Ca_v kanálů a RyR . Byla rovněž nalezena korelace mezi neurodegenerativními chorobami a vápníkovým iontem, a to ve spojení s porušením hladiny Ca^{2+} , nebo zvýšenou citlivostí na daný kationt. Mutace Ca^{2+} -senzitivních proteinů vyvolává onemocnění jako syndrom Stormorkena, Yorkův destičkový syndrom. Nadbytek vitamínu D, hyperparathyreóza mohou být příčinami hyperkalcemie, která končí ukládáním vápenatých solí v orgánech. Při hypokalcemii dochází k neuromuskulárním, neurologickým, mentálním a kožním problémům. Proto je důležité sledovat hladiny vápníku v organismu, aby se mohlo předcházet a včasné reagovat na objevení závažných chorob.

4 Literatura

Agellon LB, Michalak M. 2017. The Endoplasmic Reticulum and the Cellular Reticular Network. *Advances in experimental medicine and biology* **981**:61–76.

Aguayo-Ortiz R, Espinoza-Fonseca LM. 2020. Linking Biochemical and Structural States of SERCA: Achievements, Challenges, and New Opportunities. *International journal of molecular sciences* **21**(11):4146.

Areco VA, Kohan R, Talamoni G, Tolosa De Talamoni NG, Peralta López ME. 2020. Intestinal Ca²⁺ absorption revisited: A molecular and clinical approach. *World Journal of Gastroenterology* **26**:3344–3364.

Bagur R., Hajnóczky G. 2017. Intracellular Ca²⁺ Sensing: Its Role in Calcium Homeostasis and Signaling. *Molecular cell* **66**(6):780–788.

Baird GS. 2011. Ionized calcium. *Clinica Chimica Acta* **412**:696–701.

Beggs MR, Alexander RT., 2017. Intestinal absorption and renal reabsorption of calcium throughout postnatal development. *Experimental Biology and Medicine* **242**:840–849.

Belosludtsev KN, Dubinin MV, Belosludtseva NV, Mironova GD. 2019. Mitochondrial Ca²⁺ Transport: Mechanisms, Molecular Structures, and Role in Cells. *Biochemistry (Moscow)* **84**:593–607.

Bernardi P, Rasola, A, Forte M, Lippe G. 2015. The mitochondrial permeability transition pore: Channel formation by F-ATP synthase, integration in signal transduction, and role in pathophysiology. *Physiological Reviews* **95**(4):1111–1155.

Berridge M, Lipp P, Bootman M. 1999. Calcium signalling. *Current biology* **9**(5):157-159.

Bootman MD, Berridge MJ, Roderick HL. 2002. Activating calcium release through inositol 1,4,5-trisphosphate receptors without inositol 1,4,5-trisphosphate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**(11):7320-7322.

Bootman MD, Bultynck G. 2020. Fundamentals of Cellular Calcium Signaling: A Primer. *Cold Spring Harbor perspectives in biology* **12**(1):1-17.

Bootman MD. 2012. Calcium Signaling. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* **4**(7):1-4.

Boros S, Bindels RJ, Hoenderop JG. 2009. Active Ca²⁺ reabsorption in the connecting tubule. *Pflugers Archiv : European journal of physiology* **458**(1):99–109.

Brini M, Carafoli E. 2011. The plasma membrane Ca²⁺ ATPase and the plasma membrane sodium calcium exchanger cooperate in the regulation of cell calcium. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* **3**(2):1-17.

Bronner F, Pansu D. 1999. Nutritional Aspects of Calcium Absorption. *The Journal of Nutrition* **129**:9–12.

- Bronner F. 2009. Recent developments in intestinal calcium absorption. *Nutrition reviews* **67**(2):109–113.
- Bruce JIE. 2018. Metabolic regulation of the PMCA: Role in cell death and survival. *Cell Calcium* **69**:28-36.
- Buchowski MS. 2015. Calcium in the Context of Dietary Sources and Metabolism. Pages 3-20 in Preedy VR, editor. *Calcium: Chemistry, Analysis, Function and Effects*. Royal Society of Chemistry, United Kingdom.
- Carafoli E, Lim D. 2009. Plasma Membrane Calcium ATPase. Pages 581–596 in Lajtha M, Mikoshiba K, editors. *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology. Neural Signaling Mechanisms*. Edition 3. Springer, New York.
- Catterall WA. 2011. Voltage-Gated Calcium Channels. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* **3**(8):1-24.
- Clapham DE. 2007. Calcium signaling. *Cell*. **131**(6):1047-1058.
- Cormick G, Belizán J. 2019. Calcium Intake and Health. *Nutrients*. **11**(7):1-16.
- Del Re DP, Amgalan D, Linkermann A, Liu Q, Kitsis RN. 2019. Fundamental Mechanisms of Regulated Cell Death and Implications for Heart Disease. *Physiological reviews* **99**(4):1765–1817.
- Diaz de Barboza G, Guizzardi S, Tolosa de Talamoni N. 2015. Molecular aspects of intestinal calcium absorption. *World journal of gastroenterology* **21**(23):7142-7154.
- Elsholz F, Harteneck C, Muller W, Friedland K. 2014. Calcium – a central regulator of keratinocyte differentiation in health and disease. *European Journal of Dermatology* **24**: 650–661.
- Fill M, Copello, JA. 2002. Ryanodine receptor calcium release channels. *Physiological reviews* **82**(4):893–922.
- Flucher BE, Tuluc P. 2017. How and why are calcium currents curtailed in the skeletal muscle voltage-gated calcium channels? *The Journal of Physiology* **595**:1451–1463.
- Glaves JP, Primeau JO, Gorski PA, Espinoza-Fonseca LM, Lemieux MJ, Young HS. 2020. Interaction of a Sarcolipin Pentamer and Monomer with the Sarcoplasmic Reticulum Calcium Pump, SERCA. *Biophysical journal* **118**(2):518-531.
- Gordeeva AV, Zvyagilskaya RA, Labas YA. 2003. Cross-talk between reactive oxygen species and calcium in living cells. *Biochemistry(Moscow)* **68**(11):1077-1080.
- Görlach A, Bertram K, Hudcovova S, Krizanova O. 2015. Calcium and ROS: A mutual interplay. *Redox biology* **6**:260–271.

Gorski PA, Ceholski DK, Young HS. 2017. Structure-Function Relationship of the SERCA Pump and Its Regulation by Phospholamban and Sarcolipin. *Advances in experimental medicine and biology* **981**:77–119.

Granatiero V, De Stefani D, Rizzuto R. 2017. Mitochondrial Calcium Handling in Physiology and Disease. Pages 25-47 in Santulli G, editor. *Advances in experimental medicine and biology* 982. *Mitochondrial Dynamics in Cardiovascular Medicine*. Springer International Publishing AG, Switzerland.

Granatiero V, Giorgio V, Cali T, Patron M, Brini M, Bernardi P, Tiranti V, Zeviani M, Pallafacchina G, De Stefani D, Rizzuto R. 2016. Reduced mitochondrial Ca²⁺ transients stimulate autophagy in human fibroblasts carrying the 13514A>G mutation of the ND5 subunit of NADH dehydrogenase. *Cell death and differentiation* **23**(2):231–241.

Hadjidakis DJ, Androulakis II. 2006. Bone remodeling. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1092**:385–396.

Hajnóczky G, Csordás G, Das S, Garcia-Perez C, Saotome M, Sinha Roy S, Yi M. 2006. Mitochondrial calcium signalling and cell death: Approaches for assessing the role of mitochondrial Ca²⁺ uptake in apoptosis. *Cell Calcium* **40**:553–560.

Chen W, Kudryashev M. 2020. Structure of RyR1 in native membranes. *EMBO reports* 21 (e49891) DOI:10.15252/embr.201949891.

Christakos S. 2012. Recent advances in our understanding of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ regulation of intestinal calcium absorption. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **523**:73–76.

Jain A, Agarwal R, Sankar MJ, Deorari A, Paul VK. 2010. Hypocalcemia in the newborn. *Indian journal of pediatrics* **77**(10):1123–1128.

Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C. 2007. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiological Reviews* **87**(1):99-163.

Kushnir A, Wajsberg B, Marks AR. 2018. Ryanodine receptor dysfunction in human disorders. *Biochimica et biophysica acta–Molecular cell research* **1865**(11 Pt B):1687–1697.

Lamb HM. 2020. Double agents of cell death: novel emerging functions of apoptotic regulators. *The FEBS Journal* **287**:2647–2663.

Langmeier M a kolektiv. 2009. *Základy lékařské fyziologie*. Grada publishing, Praha.

Laver DR. 2018. Regulation of the RyR channel gating by Ca²⁺ and Mg²⁺. *Biophysical reviews* **10**(4):1087–1095.

Li Y, Tran Q, Shrestha R, Piao L, Park S, Park J, Park J. 2019. LETM1 is required for mitochondrial homeostasis and cellular viability (Review). *Molecular Medicine Reports* **19**(5):3367-3375.

- Moreira LM, Pavesi AR, Leonel F, MacHado HVN, Teixeira AO, Santos F, Santos VJSV, Lyon JP. 2016. The biological roles of calcium: Nutrition, diseases and analysis. Pages 21-29 in Preedy VR, editor. Food and Nutritional Components in Focus. Royal Society of Chemistry, United Kingdom.
- Morin G, Bruechle NO, Singh AR, Knopp C, Jedraszak G, Elbracht M, Brémond-Gignac D, Hartmann K, Sevestre H, Deutz P, Hérent D, Nürnberg P, Roméo B, Konrad K, Mathieu-Dramard M, Oldenburg J, Bourges-Petit E, Shen Y, Zerres K, Ouadid-Ahidouch H, Rochette J. 2014. Gain-of-Function Mutation in STIM1 (P.R304W) Is Associated with Stormorken Syndrome. *Human mutation* **35**(10):1221–1232.
- Murray RK. 2003. Muscle & the Cytoskeleton. Pages 556-579 in Foltin J, Ransom J, Oransky JM, editors. Harper's Illustrated Biochemistry. A LANGE medical books, Twenty-Sixth Edition. McGraw–Hill Medical, New York.
- Naumova N, Šachl R. 2020. Regulation of Cell Death by Mitochondrial Transport Systems of Calcium and Bcl-2 Proteins. *Membranes* **10**:1–32.
- Nita II, Hershinkel M, Fishman D, Ozeri E, Rutter GA, Sensi SL, Khananshvili D, Lewis EC, Sekler I. 2012. The Mitochondrial Na⁺/Ca²⁺ Exchanger Upregulates Glucose Dependent Ca²⁺ Signalling Linked to Insulin Secretion. *PLoS ONE* (e46649) DOI: 10.1371/journal.pone.0046649.
- Palta S, Saroa R, Palta A. 2014. Overview of the coagulation system. *Indian journal of anaesthesia* **58**(5):515–523.
- Pathak T, Trebak M. 2018. Mitochondrial Ca²⁺ signaling. *Pharmacology & Therapeutics* **192**:112–123.
- Peacock M. 2010. Calcium metabolism in health and disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* **5**:23-30
- Pérez MJ, Quintanilla RA. 2017. Development or disease: duality of the mitochondrial permeability transition pore. *Developmental Biology* **426**:1–7.
- Perrone D, Monteiro M. 2016. The Chemistry of Calcium. Pages 67-74 in Preedy VR, editor. Food and Nutritional Components in Focus. Royal Society of Chemistry, United Kingdom.
- Pu F, Chen N, Xue S. 2016. Calcium intake, calcium homeostasis and health. *Food Science and Human Wellness* **5**:8–16.
- Rajagopal S, Ponnusamy M. 2017. Calcium Signaling: From Physiology to Diseases. Springer Nature, Singapore.
- Rizzuto R, De Stefani D, Raffaello A, Mammucari C. 2012. Mitochondria as sensors and regulators of calcium signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **13**:566–578.
- Roman J, Palmer MI, Palmer CA, Johnson NE, Butterfield RJ. 2018. Myopathy in the York Platelet Syndrome: An Underrecognized Complication. *Case Reports in Pathology* **2018**:1-3.

Rowe P, Koller A, Sharma S. 2021. Physiology, Bone Remodeling. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499863/> (accessed February 2021).

Shoshan-Barmatz V, Krelm Y, Shteinfein-Kuzmine A. 2018. VDAC1 functions in Ca²⁺ homeostasis and cell life and death in health and disease. *Cell Calcium* **69**:81–100.

Schafer AL, Shoback DM. 2016. Hypocalcemia: Diagnosis and Treatment. In Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. *Endotext*. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279022/> (accessed April 2020).

Spronk HM, Govers-Riemslog JW, ten Cate H. 2003. The blood coagulation system as a molecular machine. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology* **25**(12):1220–1228.

Strehler EE. 2013. Plasma membrane calcium ATPases as novel candidates for therapeutic agent development. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences : a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe canadienne des sciences pharmaceutiques* **16**(2):190–206.

Tadini-Buoninsegni F, Smeazzetto S, Gualdani R, Moncelli MR. 2018. Drug Interactions With the Ca²⁺-ATPase From Sarco(Endo)Plasmic Reticulum (SERCA). *Frontiers in molecular biosciences* **5**:1-8.

Takeuchi A, Kim B, Matsuoka S. 2015. The destiny of Ca²⁺ released by mitochondria. *The Journal of Physiological Sciences* **65**:11–24.

Theobald HE. 2005. Dietary calcium and health. *Nutrition Bulletin* **30**:237-277.

Tu C-L, Bikle DD. 2013. Role of the calcium-sensing receptor in calcium regulation of epidermal differentiation and function. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* **27**:415–427.

Uusi-Rasi K, Kärkkäinen MUM, Lamberg-Allardt CJE. 2013. Calcium intake in health maintenance – a systematic review. *Food & Nutrition Research* **57**(21082):1–15.

Versteeg HH, Heemskerk JW, Levi M, Reitsma PH. 2013. New fundamentals in hemostasis. *Physiological reviews* **93**(1):327–358.

Villa-Etchegoyen C, Lombarte M, Matamoros N, Belizán JM, Cormick G. 2019. Mechanisms Involved in the Relationship between Low Calcium Intake and High Blood Pressure. *Nutrients* **11**:1-16.

Wakamori M, Imoto K. 2009. Voltage-Gated Calcium Channels. Pages 543–558 in Lajtha M, Mikoshiba K, editors. *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology. Neural Signaling Mechanisms*. Edition 3. Springer, New York.

Weaver C, Heaney RP. 1999. Calcium. Pages 109-118 in Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross CA, editors. *Modern Nutrition in Health and Disease* 9th edition. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.

Witherspoon JW, Meilleur KG. 2016. Review of RyR1 pathway and associated pathomechanisms. *Acta neuropathologica communications* **4**:1–20.

Wongdee K, Rodrat M, Teerapornpuntakit J, Krishnamra N, Charoenphandhu N. 2019. Factors inhibiting intestinal calcium absorption: hormones and luminal factors that prevent excessive calcium uptake. *The Journal of Physiological Sciences* **69**:683-696.

Wu J, Yan N, Yan Z. 2017. Structure-Function Relationship of the Voltage-Gated Calcium Channel $Ca_v1.1$ Complex. *Advances in experimental medicine and biology* **981**:23–39.

Xu Z, Zhang D, He X, Huang Y, Shao H. 2016. Transport of Calcium Ions into Mitochondria. *Current Genomics* **17**(3):215–219.

Zheng S, Zhou L, Ma G, Zhang T, Liu J, Li J, Nguyen NT, Zhang X, Li W, Nwokonko R, Zhou Y, Zhao F, Liu J, Huang Y, Gill DL, Wang Y. 2018. Calcium store refilling and STIM activation in STIM- and Orai-deficient cell lines. *Pflügers Archiv : European journal of physiology* **470**(10):1555–1567.