

Amanda Jabin Gustafsson, medicine kandidat, doktorand amajab@ki.se

Md Shahidul Islam, docent, seniorforskare; båda vid medicinkliniken, Södersjukhuset, Forsningscentrum, Karolinska institutet, Stockholm

Cellens kalciumjonsignalering – från grundforskning till patientnytta

II Kalciumjonen (Ca^{2+}) är naturens favorit bland signaleringsjonerna. Den kontrollerar cellulära processer från livets början till livets slut: fertilisering, celledelning, differentiering, genuttryck, exocytos, kontraktion, nervimpulser och celldöd (Figur 1). Man kan fråga sig varför denna jon är utvald till att styra så många processer i människokroppen.

I ett evolutionärt perspektiv spekulerar man över om havet under en viss tidsepok hade mycket låg koncentration av Ca^{2+} och om koldioxidproduktionen från tidiga livsformer medförde att det bildades surt regn och om detta i sin tur ökade havets Ca^{2+} -koncentration [1]. Primitiva livsformer bildade ett skydd mot Ca^{2+} -toxicitet genom att utveckla proteiner som band till Ca^{2+} [2]. Så småningom valde de primitiva cellerna Ca^{2+} som signaleringsjon. Anledningen kan vara jonens kemiska egenskaper. Ca^{2+} har en specifik och flexibel förmåga att binda till olika proteiner. I Ca^{2+} -signaleringen deltar många molekylära komponenter i olika isoformer med obehörligt skilda egenskaper. Detta gör att varje celltyp kan konstruera ett nätverk av Ca^{2+} -signaler speciellt anpassade efter behoven. Ca^{2+} har stor betydelse för benvävnadens strukturella integritet liksom för cellmembranets, proteinernas och kromatinets.

I artikeln beskriver vi Ca^{2+} -jonens intracellulära signaleringsfunktion snarare än dess strukturella funktioner. Vi har studerat bukspottkörtelns β -celler och illustrerar utvalda aspekter av Ca^{2+} -signalering med konkreta exempel från dessa celler. Samtidigt vill vi lyfta fram betydelsen av Ca^{2+} -signalering i ett kliniskt perspektiv.

Molekylära aktörer i Ca^{2+} -signaleringen

Det kalcium som har betydelse vid intracellulär signalering är det som finns i joniserad form inne i cellen. Vid vilotillstånd är den fria Ca^{2+} -koncentrationen i cellens cytoplasma, $[\text{Ca}^{2+}]_i$, ca 100 nM och utanför cellerna 10 000 gånger så hög. $[\text{Ca}^{2+}]_i$ måste hållas låg för att undvika toxicitet, vilket sker med hjälp av Ca^{2+} -ATPas, som pumpar ut Ca^{2+} . Dessutom finns $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -utbytare. De ATP-drivna pumparna har hög affinitet men låg kapacitet jämfört med utbytarna, som tar hand om de stora Ca^{2+} -belastningarna. Vid Ca^{2+} -signalering ökar $[\text{Ca}^{2+}]_i$, men återvänder till sitt viloläge inom kort. Att $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ökar kan jämföras med att ha tryckt på on-knappen, och en minskning i $[\text{Ca}^{2+}]_i$ innebär att man har tryckt på off-knappen. Andra molekyler som deltar i dessa processer inkluderar Ca^{2+} -bindande proteiner, Ca^{2+} -kanaler, Ca^{2+} -mobiliserande budbärare och verkställande molekyler (Figur 2).

I plasmamembranet finns Ca^{2+} -kanaler av olika slag: spänning känsliga, receptoraktiverade och kanaler som tillhör »transient receptor potential«(TRP)-familjen. Receptorakti-

Sammanfattat



Ett stort antal jonkanaler, enzymer, pumpar och bindande proteiner deltar i utformningen av intracellulära kalciumjonsignaler och tolkningen av dessa.

Kalciumjonsignalering sker i form av oscillationer, vågor och gnistor av intracellulära kalciumjonökningar. Dessa signaler används i nästan alla celler och är involverade i regleringen av viktiga cellfunktioner.

Rubbad kalciumjonsignalering leder till olika sjukdomstillstånd.

Läkemedel som påverkar kalciumjonsignaleringen används för behandling av vissa sjukdomar. Olika molekyler som deltar i signaleringen utgör potentiella mål vid utvecklingen av nya läkemedel.

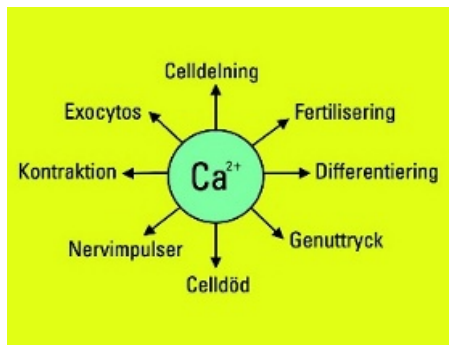
Kartläggning av kalciumjonsignaleringen ökar förståelsen för hur sjukdomsprocesser uppkommer på molekylär nivå och banar väg för utveckling av nya behandlingsformer.

verade jonkanaler aktiveras då en extracellulär ligand binder till kanalen. Exempel på sådana kanaler är glutamatreceptorer och purinerga receptorer av P_2X -typ, som båda finns i många celler.

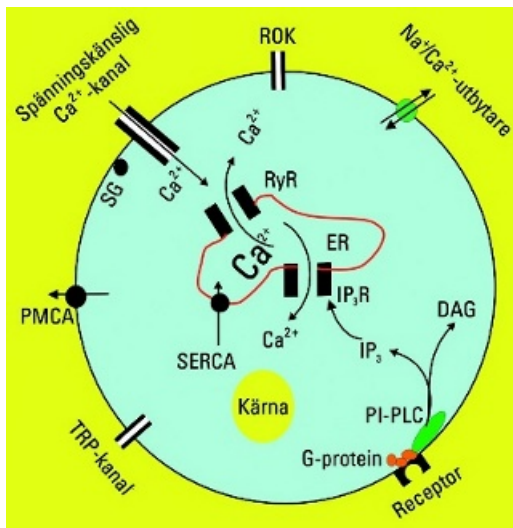
Det endoplasmatiske retiklet (ER) är det viktigaste Ca^{2+} -förrådet i cellen. I ER-membranet finns Ca^{2+} -kanaler och Ca^{2+} -pumpar. Dessutom finns ett stort antal Ca^{2+} -bindande proteiner i både ER och cytoplasma. Många molekyler kan känna av och tolka Ca^{2+} -signaler, och många jonkanaler, enzymer och proteiner regleras av Ca^{2+} [2]. Nedan kommer vi att vidareutveckla några olika Ca^{2+} -aktörers funktion och betydelse.

Ca^{2+} -signalers uppkomst

Ca^{2+} kommer in över plasmamembranet eller frisätts från ER, och därmed uppkommer en Ca^{2+} -signal. Ca^{2+} -inflöde sker genom någon av Ca^{2+} -kanalerna i plasmamembranet. Ca^{2+} frisätts från ER via någon av de intracellulära jonkanalerna, som kan aktiveras av olika intracellulära budbärare. Det frisatta



Figur 1. Figuren visar processer som regleras av intracellulära Ca^{2+} -signaler.



Figur 2. Figuren visar några av de molekyler som deltar i Ca^{2+} -signaleringen. Figuren visar också en mekanism för att starta Ca^{2+} -inducerad Ca^{2+} -frisättning (CICR). SERCA = sarko-endoplasmiskt retikel- Ca^{2+} -ATPas; IP_3 = inositol-1,4,5-trifosfat; IP_3R = inositol-1,4,5-trifosfatreceptor; RyR = ryano-dinreceptor; SG = sekretoriska granula; PI-PLC = fosfatidylinositol-specifikt fosfolipas C; DAG = diacylglycerol; ROK = receptoraktiverad kanal; PMCA = plasmamembran- Ca^{2+} -ATPas; ER = endoplasmiskt retikel.

Ca^{2+} fungerar som en intracellulär budbärare och reglerar flertalet Ca^{2+} -känsliga processer.

Spänningskänsliga Ca^{2+} -kanaler

De mest kända Ca^{2+} -kanalerna är de som aktiveras när plasmamembranet depolariseras. Det finns tio spänningskänsliga Ca^{2+} -kanaler, som tillhör tre genfamiljer: Ca_v1 -familjen har elektriska egenskaper av L-typ, vilket betyder att kanalerna kräver hög spänning för att aktiveras och att de håller öppet under en längre tid («Large and Long»). En rad läkemedel som används för behandling av högt blodtryck och hjärt-kärlsjukdomar verkar genom att blockera Ca^{2+} -kanaler av L-typ. Exempel är läkemedel som tillhör grupperna dihydropyridiner (felodipin), fenylalkylaminer (verapamil) och benzotiazepiner (diltiazem) [3]. Ca_v3 -familjen aktiveras av låg spänning och har elektriska egenskaper av T-typ, vilket innebär att strömmarna är mindre och kortvariga («Tiny and Transient»). Dessa kanaler har inga specifika antagonister. Ca_v2 -familjen ger olika typer av strömmar (av N- och P/Q-typ) och blockeras inte av dihydropyridiner.

De spänningskänsliga Ca^{2+} -kanalerna bidrar till muskelkontraktion och till frisättning av neurotransmittorer och hormoner. I insulinproducerande β -celler finns huvudsakligen $Ca_v1.3$. Kanalerna består av fyra enheter: α , α_2 , β och γ . Nyligen har det visats att insulinfrisättningen från β -celler kan öka om β -enheten blockeras [4]. Man tror därför att nya läkemedel mot diabetes skulle kunna utvecklas genom att denna del av kanalen blockeras.

TRP-kanalerna

TRP-kanalerna upptäcktes i nädhinnan hos blinda bananflugor [5]. I fotoreceptorcellerna var den ljusinducerade förändringen i membranpotentialen övergående i stället för bestående, som i friska celler. Det visade sig bero på en mutation i en kanal, som därmed kallades TRP-kanalen. Nu har man funnit en stor grupp av jonkanaler som är relaterade till den ursprungliga TRP-kanalen, och de finns i nästan alla celler.

Tillsammans medierar TRP-kanalerna flera sensoriska funktioner. De är mycket olika när det gäller struktur, reglering och funktion. TRP-kanalerna utgör idag ett aktivt forskningsområde, där kartläggningen av reglering och funktioner är i full gång.

TRP-kanalerna indelas i två grupper utifrån likheter. Grupp 1 har fem subfamiljer. Det finns sju TRPC-kanaler, sex TRPV-kanaler och åtta TRPM-kanaler. Dessutom finns det två ytterligare kanaler, TRPA och TRPN. De kanaler som är

mest besläktade med de ursprungliga TRP-kanalerna hör till TRPC-familjen, där C står för «Classical». Kunskapen om dessa kanalers funktion är knapp, men TRPC3, 6 och 7 aktiveras av diacylglycerol (DAG), och andra regleras av bl a exocytotiska mekanismer. TRPC2 spelar roll vid feromonsvaret och bidrar till manlig aggression. Hos möss där TRPC2-kanaler slagits ut har ett bisexuellt beteende utvecklats.

TRPV-kanalerna är relaterade till vanilloidreceptorn, som är den första medlemmen i gruppen. Dessa kanaler aktiveras av värme, förändringar i osmolaritet, lukt och mekaniskt stimulus. TRPV1 aktiveras t ex av värme över $42^\circ C$ och av kapsaicin, som finns i chilipeppar, vilket förklarar den brännande känslan i munnen då denna krydda intas. TRPV2 kräver däremot $52^\circ C$ för att aktiveras. TRPV4 är viktig för hörsel och tryckkänsla och kan aktiveras av bl a arakidonsyra. TRPV5 och 6 har hög selektivitet för Ca^{2+} till skillnad från andra TRP-kanaler som, förutom av Ca^{2+} , tillåter passage av andra joner.

TRPM-kanalerna är relaterade till melastatin, ett tumörhämmande protein, som också är den första upptäckta medlemmen i gruppen. TRPM-kanalerna är viktiga för grundläggande känsloupptäckning när det gäller smak och kyla. TRPM8 ansvarar för känsla för kyla och aktiveras av mentol, vilket förklarar den igenkända kylande effekten detta ämne har. TRPA1 har betydelse för hörsel och smärta i samband med köld. TRPN är viktig för mekanisk överföring.

Många TRP-kanaler styrs av mekanismer som involverar de komplexa fosfolipas C- och fosfatidylinositolvägarna. När ER har tömts ökar Ca^{2+} -inflödet över plasmamembranet, vilket kallas kapacitativt Ca^{2+} -inflöde. Vissa menar att TRP-kanalerna medverkar i detta inflöde. Nyligen har man upptäckt ett protein som kallas STIM1 och som har en nyckelroll i det kapacitativa Ca^{2+} -inflödet. I β -cellerna leder aktivering av ryano-dinreceptorer till aktivering av TRP-kanaler [6].

Grupp 2 av TRP-kanalerna har två subfamiljer, TRPP och TRPML. Mutationer i dessa orsakar polycystisk njursjukdom respektive mukopolidosis.

Signaleringssystemet PI-PLC

Fosfatidylinositol-specifikt fosfolipas C (PI-PLC) utgör en familj av nyckelenzymer i Ca^{2+} -signaleringen. Dessa enzymer medierar cellsignalering via ett stort antal hormoner och tillväxtfaktorer. PI-PLC-enzymerna klyver fosfatidylinositol-4,5-bisfosfat till inositol-1,4,5-trifosfat (IP_3), som frisätter Ca^{2+} , och DAG, som aktiverar proteinkinase C [7, 8].

Det finns elva isoformer av PI-PLC, som delas in i fyra fa-

miljer: β , γ , δ och ϵ . G-proteinkopplade receptorer aktiverar PLC β , och tyrosinkinaskopplade receptorer aktiverar PLC γ . Således är det många tillväxtfaktorer som aktiverar PI-PLC γ . PLC δ aktiveras av Ca^{2+} och PLC ϵ av GTP-Ras.

Endoplasmatiska retiklets roll

Det endoplasmatiska retiklet (ER) är känt för sin roll i proteinsyntesen men är också ett sofistikerat instrument för Ca^{2+} -signaler. ER fylls med Ca^{2+} via sarkoendoplasmiskt retikel- Ca^{2+} -ATPas (SERCA). Kalsekvestrin (calsequestrin) är ett Ca^{2+} -bindande protein som finns i ER och har hög kapacitet och låg affinitet för Ca^{2+} .

Det finns två familjer av Ca^{2+} -kanaler i ER: IP_3 - och ryanodinreceptorer. De sistnämnda har fått sitt namn från växtalkaloiden ryanodin, som binder till receptorn med nanomolaraffinitet. Det finns tre isoformer av båda Ca^{2+} -kanalerna. Medan IP_3 aktiverar IP_3 -receptorer kan ryanodinreceptorerna aktiveras på flera sätt, exempelvis av Ca^{2+} , protein-proteininteraktion och möjligtvis av budbärare som cykiskt adenosindifosfatribos (cADPR).

Intracellulära budbärare

IP_3 är den mest kända Ca^{2+} -mobiliserande intracellulära budbäraren. Andra är cADPR och nikotinsyraadenindinukleotidfosfat (NAADP). cADPR och NAADP bildas från NAD och NADP. Både cADPR och NAADP bildas av samma enzym: ADP-ribosylcyklas eller dess homolog CD38. NAADP aktiverar en till helt nyligen okänd intracellulär Ca^{2+} -kanal.

Ca^{2+} -inducerad Ca^{2+} -frisättning

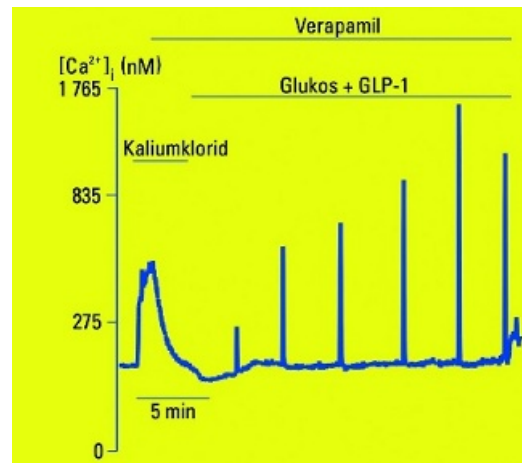
Ca^{2+} -inducerad Ca^{2+} -frisättning (Ca^{2+} induced Ca^{2+} release, CICR) är ett intracellulärt signaleringsfenomen, där Ca^{2+} triggar frisättning av ytterligare Ca^{2+} från ER eller sarkoplasmatiska retiklet (SR). CICR beskrevs för första gången i hjärtmuskelceller, där ett litet Ca^{2+} -inflöde genom Ca^{2+} -kanaler av L-typ i plasmamembranet orsakade stor Ca^{2+} -frisättning från SR. Ca^{2+} -kanaler som finns på plasmamembranet kommunicerar med Ca^{2+} -kanaler lokaliserade på ER genom denna mekanism (Figur 2). CICR sker i form av Ca^{2+} -oscillationer (Figur 3). CICR förstärker således Ca^{2+} -signalerna dramatiskt. Förutom i hjärtat finns detta fenomen i många elektriskt exciterbara celler, såsom andra typer av muskelceller, nervceller och endokrina celler.

Oscillationer, vågor och gnistor

Vid Ca^{2+} -signaler sker Ca^{2+} -ökningen ofta i form av oscillationer (Figur 3). När en cell aktiveras av en låg koncentration av en agonist har oscillationerna låg frekvens. Om koncentrationen av agonisten är hög blir frekvensen högre. När oscillationer studeras med konfokalmikroskopi ses de som Ca^{2+} -vågor, som sprider sig från ett ställe i cytoplasman till resten av cellen.

Fördelen med oscillation jämfört med kontinuerligt ökad Ca^{2+} -nivå är att cellerna då inte tar skada av Ca^{2+} . Oscillation minskar sannolikheten för att de intracellulära Ca^{2+} -receptorerna desensitiserar. Celler tolkar Ca^{2+} -signalerna med ledning av graden av Ca^{2+} -ökning eller oscillationshastigheten. Det är visat att Ca^{2+} -oscillationer ökar effektiviteten och informationsinnehållet i en Ca^{2+} -signal som leder till genuttryck. Viss gentranskription regleras av Ca^{2+} -amplituden och annan gentranskription av oscillationsfrekvensen.

Det finns olika typer av Ca^{2+} -oscillationer. I β -celler har minst tre typer beskrivits [9]. Hur Ca^{2+} -oscillationer bildas och tolkas på molekylär nivå är ett aktivt forskningsfält. Rubbad Ca^{2+} -oscillation misstänks vara bakomliggande orsak vid vissa sjukdomstillstånd. Ett exempel är försämrad insulinfrisättning, som hos friska människor sker pulsatilt på grund av



Figur 3. Figuren visar oscillationer av $[\text{Ca}^{2+}]_i$ i beta-celler utlösta av GLP-1. Humana betaceller laddades med fluorescensindikatorn fura 2, och $[\text{Ca}^{2+}]_i$ mättes med mikroskopbaserad fluorometri. Cellen depolariserades med hjälp av kaliumklorid, som ökade $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Tillsättning av verapamil minskade $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Glukos och GLP-1 tillsattes därefter, och toppformade Ca^{2+} -oscillationer uppkom. Dessa toppar beror på CICR, som sensitiserar av GLP-1. Lägga märke till att verapamil minskar sannolikheten för att Ca^{2+} -kanaler av L-typ ska öppnas men stänger inte kanalerna helt.

att Ca^{2+} -ökningen i β -cellerna sker i form av oscillationer. Vid typ 2-diabetes har den pulsatila insulinfrisättningen försvunnit. Försök med djurmodeller visar att detta kan bero på fel i just Ca^{2+} -oscillationerna [10].

När Ca^{2+} -ökning mäts i celler med konfokalmikroskopi ses att ökningen ofta sker i form av små gnistor i olika delar av cellen. Vissa gånger kan en gnista leda till en generell ökning av $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Lokala Ca^{2+} -gnistor kan leda till olika förändringar i cellen, beroende på var de sker. I glattmuskelceller är det visat att muskelrelaxation uppkommer genom att Ca^{2+} -gnistor sker precis under plasmamembranet, medan en generell Ca^{2+} -ökning i cytoplasman orsakar muskelkontraktion.

Nätverk av kommunikation

Cellsignaler innefattar ett nät av olika signalvägar. Det pågår ett informationsflöde mellan Ca^{2+} -signaler och andra signalvägar. Ca^{2+} -signaler interagerar med cAMP-, NO-, fosfatidylinositol 3-kinas- och mitogenaktiverade kinassystem. Detaljerna i dessa interaktioner är komplexa. Som exempel kan vi se på hur Ca^{2+} - och cAMP-signaler interagerar: Ca^{2+} aktiverar adenylylcyklas typ 1, 3 och 8 och hämmar adenylylcyklas typ 5 och 6. Å andra sidan reglerar cAMP-systemet aktiviteten i ett antal Ca^{2+} -kanaler. Ett konkret exempel är att det nya diabetesläkemedlet glukagonlik peptid 1 (GLP-1) ökar cAMP-halten i β -celler, vilket i sin tur medför stora oscillationer i $[\text{Ca}^{2+}]_i$ och ökad insulinfrisättning.

Sensorer tolkar signalerna

En rad olika Ca^{2+} -sensorer tolkar Ca^{2+} -signalerna. Dessa sensorer kan vara enzymer, jonkanaler, exocytotiska proteiner eller transkriptionsfaktorer. Den mest kända Ca^{2+} -receptorn i cytoplasman är kalmodulin. Ca^{2+} -kalmodulinkomplexet reglerar aktiviteten hos många enzymer, inklusive Ca^{2+} -kalmodulinberoende proteinkinaser, Ca^{2+} -aktiverade proteinfosfataser (kalcineurin) och Ca^{2+} -beroende proteaser (kalpainer). Många jonkanaler fungerar som Ca^{2+} -sensorer, t ex Ca^{2+} -beroende kalium- och kloridkanaler.

Muskelkontraktion och sekretion är två viktiga cellfunk-

II Fakta 1

Sjukdomar med koppling till rubbad Ca^{2+} -signalering

Sjukdom	Inblandad molekyl
Malign hypertermi	Ryanodinreceptor typ 1
En form av ventrikulär takykardi	Ryanodinreceptor typ 2
Familjär hypokalemisk periodisk paralys	Ca^{2+} -kanaler av L-typ
Brodys sjukdom (muskelsjukdom)	Intracellulär Ca^{2+} -pump (SERCA 1)
Darier-Whites sjukdom, (hudsjukdom)	Intracellulär Ca^{2+} -pump (SERCA 2)
Hailey-Haileys sjukdom (hudsjukdom)	Intracellulär Ca^{2+} -pump (ATP2C1)
Familjär hemiplegisk migrän typ 1	Spänningskänslig Ca^{2+} -kanal (Ca _v 2.1)
Vissa former av epilepsi, ataxi och nattblindhet, Lambert-Eatons syndrom (myasteni)	Spänningskänsliga Ca^{2+} -kanaler
Polycystisk njursjukdom	TRP-kanal (TRPP2)
Mukolipidos	TRP-kanal (TRPML1)
Diabetes mellitus typ 2	Ca^{2+} -aktiverat proteas (kalpain-10)
Finsk hereditär amyloidos	Ca^{2+} -bindande protein (gelsolin)
Karcinomassocierad retinopati	Ca^{2+} -bindande protein (recoverin)
Ökad trombosbenägenhet	Ca^{2+} -bindande protein (annexin II)

annons

tioner som medieras av Ca^{2+} -signaler. Muskelkontraktion initieras genom att Ca^{2+} binder till troponin C. Vad gäller sekretion finns en grupp proteiner som bildar ett komplex kallat SNARE. Det fungerar som Ca^{2+} -sensor för att mediera exocytos [11].

Ca^{2+} reglerar uttryck av olika gener genom Ca^{2+} -känsliga transkriptionsfaktorer. Exempel på dessa är cAMP-respons-elementbindande protein, NF- κ B och NF-AT. De två sistnämnda reglerar uttryck av gener som kodar för cytokiner som har betydelse för immun- och inflammationssjukdomar.

Excitation och kontraktion

I hjärtat finns två Ca^{2+} -cykler som reglerar kontraktion och relaxation. Den ena är extracellulär och den andra intracellulär. Den mindre, extracellulära Ca^{2+} -cykeln är inkopplad när Ca^{2+} rör sig in i och ut ur cellen över plasmamembranet. Aktionspotentialen öppnar Ca^{2+} -kanaler i plasmamembranet och tillåter passage av Ca^{2+} in i cellen från det extracellulära utrymmet genom Ca^{2+} -kanaler av L-typ. Den extracellulära Ca^{2+} -cykeln kan inte på egen hand utlösa kontraktion, däremot aktiverar Ca^{2+} -inflödet CICR (Figur 2). Den extracellulära cykeln fullgörs genom att Ca^{2+} pumpas ut ur cellen, huvudsakligen via $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -utbytaren men även via Ca^{2+} -ATPas i plasmamembranet. Den intracellulära cykeln är viktigare än den extracellulära både funktionellt och kvantitativt. Den innebär att Ca^{2+} -strömmar in i och ut ur SR samt att Ca^{2+} binder till och frigörs från troponin C.

I den intracellulära Ca^{2+} -cykeln sker en Ca^{2+} -frisättning via

ryanodinreceptorer, som initierar kontraktion. Ett aktivt Ca^{2+} -upptag via Ca^{2+} -pumpen i SR medför att hjärtat kan slappna av. Inuti SR lagras Ca^{2+} i komplex med kalsekvestrin och andra Ca^{2+} -bindande proteiner.

Till skillnad från hjärtmuskelceller saknar skelettmuskelceller den extracellulära Ca^{2+} -cykeln. Kontraktion sker på grund av Ca^{2+} -frisättning från SR via ryanodinreceptorer. Ryanodinreceptorerna i skelettmuskelceller öppnas på grund av interaktion med spänningskänsliga Ca^{2+} -kanaler i plasmamembranet. Detta sker huvudsakligen via direkt protein-proteininteraktion. Vid upprepad muskelkontraktion ökar fosfathalten i muskeln, och fosfat binder Ca^{2+} i SR, vilket leder till minskad frisättning av Ca^{2+} till sarkoplasman. Detta tros vara en mekanism bakom muskeltrötthet [12].

Stimulering och sekretion

Ca^{2+} -signalering reglerar exocytos av hormoner, neurotransmittorer, tillväxtfaktorer, cytokiner m fl. Detta kan exemplifieras med signalvägar som leder till insulinfrisättning. När glukoskoncentrationen ökar påskyndas metabolismen i den insulinproducerande β -cellen. Detta ökar ATP/ADP-kvoten och medför att ATP-känsliga K^+ -kanaler stängs och att cellen depolariseras. Konsekvensen blir att spänningskänsliga Ca^{2+} -kanaler öppnas och att Ca^{2+} flödar in i cellen. $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -ökningen ger upphov till exocytos, dvs fusion mellan insulingranula och plasmamembran, och således frisättning av insulin.

Förutom av denna triggnings optimeras insulinfrisättningen av den signalamplifiering som uppkommer i och med glukosmetabolismen. Både kliniska studier och djurmodellstudier antyder att både triggningen och amplifieringen av signalerna är försämrade i β -celler vid typ 2-diabetes. De sulfonylureapreparat som används för att stimulera insulinfrisättning verkar genom att stänga de ATP-känsliga K^+ -kanalerna och på så sätt öka $[\text{Ca}^{2+}]_i$.

Det ska noteras att näringsämnen bara i ringa grad kan stimulera till insulinsekretion. För att få en effektiv insulinsekretion måste hormoner som frisätts från gastrointestinalkanalen vid födointag agera tillsammans med näringsämnen på β -celler. Vissa inkretinhormoner, t ex GLP-1, aktiverar receptorer som är kopplade till cAMP-systemet [13]. Andra inkretinhormoner och neurotransmittorer aktiverar receptorer som är knutna till fosfolipas C. Aktivering av dessa fosfolipas C-kopplade receptorer leder till produktion av IP_3 och frisättning av Ca^{2+} från ER. Därmed ökar $[\text{Ca}^{2+}]_i$, ofta i form av oscillationer (Figur 3).

Patientnytta

Antalet sjukdomar som har koppling till rubbningar i Ca^{2+} -signaleringen ökar med nyvunnen kunskap. Exempel på folksjukdomar där studier har visat att Ca^{2+} -signaleringen är rubbad är diabetes, Alzheimers sjukdom, kardiomyopati, inflammatoriska sjukdomar, psoriasis och cancer [14]. Det är däremot inte fullständigt kartlagt huruvida den förändrade Ca^{2+} -signaleringen är den bakomliggande sjukdomsorsaken eller en följd av sjukdomen. Fakta I visar ett axplock av sjukdomar där mutationer i Ca^{2+} -signaleringsmolekylerna är involverade. Några av sjukdomarna är relativt sällsynta, men det visar ändå på den kliniska betydelsen av Ca^{2+} -signalering och medför nya insikter.

Antikroppar riktade mot spänningskänsliga Ca^{2+} -kanaler av P/Q-typ orsakar Lambert-Eatons syndrom (myasteni). Antikropparna hittas hos 90 procent av patienterna, och i nästan alla fall när sjukdomen är associerad med cancer.

Mutationer i ovanstående Ca^{2+} -kanalers subenhet $\alpha_1\text{A}$ kan orsaka familjär hemiplegisk migrän [15], autosomt dominant cerebellär ataxi typ 6 eller episodisk ataxi typ 2. Migrän drabbar 10–15 procent av befolkningen, och den he-

miplegiska varianten innebär att patienten har episoder av återkommande hemipareser under migränutbrottet. Mutationer i ett Ca^{2+} -bindande protein, gelsolin, orsakar en form av hereditär amyloidos som förekommer hos framför allt finländare. Antikroppar riktade mot recoverin, ett fotoreceptorspecifikt Ca^{2+} -bindande protein, medför utveckling av en karcinomassocierad retinopati.

Vid vissa sjukdomstillstånd kan ett antal förändringar i Ca^{2+} -signaleringen vara bidragande orsak till sjukdomsutvecklingen. Vid hjärtsvikt ses att $[\text{Ca}^{2+}]_i$ är hög under diastole och relativt låg under systole. Mängden av mRNA till spänningskänsliga Ca^{2+} -kanaler, SERCA, ryanodinreceptorer och fosfolamban är minskad vid hjärtsvikt och ökad till $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -utbytare. Nyligen har man upptäckt att hyperfosforylering av ryanodinreceptorer uppstår på grund av kronisk överaktivitet i det sympatiska systemet [16]. Detta medför att Ca^{2+} läcker från SR under diastole, vilket förklarar den höga $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Tömning av SR kan leda till kontraktill dysfunktion och utlösa allvarliga hjärtarytmier. Dessa observationer förklarar varför β -blockerare kan vara nyttiga vid behandling av kronisk hjärtsvikt. Tidigare har β -blockerare ansetts vara kontraindicerade vid hjärtsvikt.

Mutationer i genen som kodar för ryanodinreceptor typ 2 orsakar Ca^{2+} -läckage, och detta har visats ligga bakom vissa former av träningsinducerade hjärtarytmier och plötslig hjärtdöd. Läkemedel som ska minska läckaget från SR är nu under utveckling.

Vid typ 2-diabetes är insulinfrisättningen, som svar på glukosökningen, minskad och sekretionens pulsilitet försämrad. Langerhanska öar från djurmodeller har använts för att studera Ca^{2+} -signalering. Samtliga studier visar att ett minskat antal β -celler svarar på glukos och att ökningen av $[\text{Ca}^{2+}]_i$ sker långsammare samt att den maximala Ca^{2+} -ökningen är lägre än i normala fall. Därtill kommer att Ca^{2+} -förändringarna inte längre oscillerar, vilket sker i normala β -celler. Som nämnts tidigare är Ca^{2+} en toxisk jon om den inte regleras noggrant. Både vid typ 1- och typ 2-diabetes finns misstankar om att β -cellerna dör genom apoptos eller nekros på grund av Ca^{2+} -toxicitet [17].

Ca^{2+} -signalering som mål för läkemedel

Många läkemedel verkar genom att påverka något skede i Ca^{2+} -signaleringskaskaden, exempelvis Ca^{2+} -kanalblockerare. Läkemedel som används för att öka insulinfrisättningen vid behandling av typ 2-diabetes, t ex sulfonylurea, verkar genom att öka $[\text{Ca}^{2+}]_i$ i β -celler. Aktivering av CICR i β -celler ökar Ca^{2+} - och insulinfrisättning endast när glukoskoncentrationen är hög [18]. Nya diabetesläkemedel, t ex GLP-1, verkar genom att sensitisera CICR och har betydande effekt på både β -celler och hjärtat [19, 20].

Nitrater orsakar vasodilatation genom att påverka Ca^{2+} -signaleringen. Kväveoxid bildas från nitrater och aktiverar ryanodinreceptorer, som finns i närheten av plasmamembranet. Lokala Ca^{2+} -gnistor utlöses och aktiverar Ca^{2+} -känsliga K^+ -kanaler. Detta medför att K^+ strömmar ut ur cellen och att cellmembranet hyperpolariseras, vilket ger upphov till den eftersträfvade vasodilatationen.

Litium är det mest humörstabiliserande läkemedlet vid behandling av bipolär sjukdom. Litium tros verka genom att blockera enzymer i fosfatidylinositol-signaleringsystemet, som är direkt kopplat till Ca^{2+} -signalering.

Utvecklingen av fluorescensbaserade metoder för att mäta Ca^{2+} -koncentrationen i enstaka levande celler har skapat en smärre revolution inom cellbiologin. Numera används dessa metoder för att upptäcka nya läkemedel. En metod, som kallas »fluorometric imaging plate reader« (FLIPR), går ut på att screena tusentals ämnen för att hitta något som ökar Ca^{2+} -hal-

ten i cellen i fråga. Bland de många Ca^{2+} -kanaler och andra aktörer som vi beskrivit finns det stor potential att utveckla nya läkemedel som verkar via dessa molekyler. Detta kommer utan tvivel innebära ett stort genomslag för behandling av en lång rad sjukdomar.

Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.

Referenser

- Williams RJ. The natural selection of the chemical elements. *Cell Mol Life Sci.* 1997;53:816-29.
- Evenäs J, Malmendal A, Forsén S. Calcium. *Curr Opin Chem Biol.* 1998;2:293-302.
- Noll G, Luscher TF. Comparative pharmacological properties among calcium channel blockers: T-channel versus L-channel blockade. *Cardiology.* 1998;89 Suppl 1:10-5.
- Berggren PO, Yang SN, Murakami M, Efanov AM, Uhles S, Kohler M, et al. Removal of Ca^{2+} channel beta3 subunit enhances Ca^{2+} oscillation frequency and insulin exocytosis. *Cell.* 2004;119:273-84.
- Minke B, Cook B. TRP channel proteins and signal transduction. *Physiol Rev.* 2002;82:429-72.
- Gustafsson AJ, Ingelman-Sundberg H, Dzabic M, Awasum J, Nguyen K H, Östen CG, et al. Ryanodine receptor-operated activation of TRP-like channels can trigger critical Ca^{2+} signaling events in pancreatic beta-cells. *FASEB J.* 2005;19:301-3.
- Berridge MJ. Rapid accumulation of inositol trisphosphate reveals that agonists hydrolyse polyphosphoinositides instead of phosphatidylinositol. *Biochem J.* 1983;212:849-58.
- Takai Y, Kishimoto A, Kikkawa U, Mori T, Nishizuka Y. Unsaturated diacylglycerol as a possible messenger for the activation of calcium-activated, phospholipid-dependent protein kinase system. *Biochem Biophys Res Commun.* 1979;91:1218-24.
- Grapengiesser E, Gylfe E, Hellman B. Cyclic AMP as a determinant for glucose induction of fast Ca^{2+} oscillations in isolated pancreatic beta-cells. *J Biol Chem.* 1991;266:12207-10.
- Roe MW, Philipson LH, Frangakis CJ, Kuznetsov A, Mertz RJ, Lancaster ME, et al. Defective glucose-dependent endoplasmic reticulum Ca^{2+} sequestration in diabetic mouse islets of Langerhans. *J Biol Chem.* 1994;269:18279-82.
- Barg S, Eliasson L, Renström E, Rorsman P. A subset of 50 secretory granules in close contact with L-type Ca^{2+} channels accounts for first-phase insulin secretion in mouse beta-cells. *Diabetes.* 2002;51:S74-82.
- Westerblad H, Bruton JD, Allen DG, Lännergren J. Functional significance of Ca^{2+} in long-lasting fatigue of skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol.* 2000;83:166-74.
- Ahrén B. Ny strategi vid typ 2-diabetes prövas i kliniska studier. Glukagonlik peptid 1 (GLP-1) påverkar sjukdomens grundorsaker. *Läkartidningen.* 2005;102:545-9.
- Carafoli E. Calcium-mediated cellular signals: a story of failures. *Trends Biochem Sci.* 2004;29:371-9.
- Pietrobon D, Striessnig J. Neurobiology of migraine. *Nat Rev Neurosci.* 2003;4:386-98.
- Wehrens XH, Lehnart SE, Marks AR. Intracellular calcium release and cardiac disease. *Annu Rev Physiol.* 2005;67:69-98.
- Chandra J, Zhivotovsky B, Zaitsev SV, Juntti-Berggren L, Berggren PO, Orrenius S. Role of apoptosis in pancreatic beta-cell death in diabetes. *Diabetes.* 2001;50:S44-7.
- Bruton JD, Lemmens R, Shi CL, Persson-Sjögren S, Westerblad H, Ahmed M, et al. Ryanodine receptors of pancreatic beta-cells mediate a distinct context-dependent signal for insulin secretion. *FASEB J.* 2003;17:301-3.
- Holz GG, Leech CA, Heller RS, Castonguay M, Habener JF. cAMP-dependent mobilization of intracellular Ca^{2+} stores by activation of ryanodine receptors in pancreatic b-cells. A Ca^{2+} signalling system stimulated by the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1-(7-37). *J Biol Chem.* 1999;274:14147-56.
- Nyström T, Gutniak MK, Zhang Q, Zhang F, Holst JJ, Ahrén B, et al. Effects of glucagon-like peptide-1 on endothelial function in type 2 diabetes patients with stable coronary artery disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004; 287:E1209-15.

annons



=artikeln är referentgranskad

SUMMARY

A large number of ion channels, enzymes, pumps and binding proteins participate in the generation of intracellular Ca^{2+} signals and their decoding. Ca^{2+} signalling takes place in the form of oscillations, waves and sparks. Such Ca^{2+} signals occur in almost all cells and regulate diverse cell functions. Perturbation of Ca^{2+} signalling leads to disease states. Drugs that act on Ca^{2+} -signalling are commonly used in treatment of several diseases. Different molecules involved in Ca^{2+} signalling are potential targets for development of new therapies. Thus, basic research in Ca^{2+} signalling increases our understanding of the pathogenesis of diseases at a molecular level and the likelihood of development of new therapeutic modalities.

Amanda Jabin Gustafsson, Md Shahidul Islam

Correspondence: Amanda Jabin Gustafsson, Forskningscentrum, Södersjukhuset, SE-118 83 Stockholm, Sweden amajab@ki.se