

Chronické ochorenie obličiek a vápniková homeostáza bunky

I. Lajdová, A. Okša, A. Spustová, R. Dzúrik

Ústav farmakológie, klinickej a experimentálnej farmakológie Lekárskej fakulty SZU Bratislava, Slovenská republika, prednosta prof. MUDr. Jozef Holomáň, CSc.

Súhrn: Koncentrácia voľného cytosolového vápnika ($[Ca^{2+}]_i$) je veľmi dôležitým signálnym mediátorom pre množstvo biologických systémov. Katióny vápnika (Ca^{2+}) sú významnými ubikvitárnymi poslami, ktoré kontrolujú široké spektrum bunkových procesov. $[Ca^{2+}]_i$ je kontrolovaná mechanizmami, ktoré regulujú vstup vápnika z extracelulárneho priestoru a jeho uvoľnenie z intracelulárnych priestorov. Aktivitou ATP-dependentných Ca^{2+} púmp a výmenníkových systémov sa vápnik vracia do intracelulárnych zásobníkov alebo sa odčerpáva z bunky. Chronické ochorenie obličiek je spojené so signifikantným zvýšením $[Ca^{2+}]_i$, ktoré je pre bunky toxické a môže byť zodpovedné za mnohé orgánové poruchy. Za zmeny vápnikovej homeostázy buniek u pacientov s chronickým ochorením obličiek zodpovedá navzájom prepojený komplex procesov. Naše štúdie objasňujú patofyziologické mechanizmy, podieľajúce sa na zmenenej homeostáze vápnika v periférnych mononukleárných bunkách, ktoré sú modelom neexcitabilných buniek. $[Ca^{2+}]_i$ je signifikantne zvýšená už v skorých štádiách chronického ochorenia obličiek. Koncentrácia intracelulárnych vápnikových rezerv a kapacitný vstup vápnika sú v porovnaní so zdravými dobrovoľníkmi významne zvýšené. Na tomto zvýšení sa podieľajú aj „pore-forming“ $P2X_7$ receptory, ktoré majú u pacientov s chronickým ochorením obličiek zmenenú funkciu a vo zvýšenej miere sa exprimujú. Na druhej strane je aktivita plazmatických Ca^{2+} -ATPáz zodpovedných za odstraňovanie nadbytočného vápnika z bunky znížená o 25 %. To znamená, že pri chronickom ochorení obličiek sú porušené ako mechanizmy vstupu, tak aj výstupu vápnika z bunky. Všetky tieto poruchy sa v signalizácii vápnika podieľajú na zvýšenej $[Ca^{2+}]_i$ už v skorých štádiách renálneho ochorenia.

Kľúčové slová: intracelulárny vápnik – chronické ochorenie obličiek – vápniková signalizácia a regulácia

Chronic kidney disease and cellular calcium homeostasis

Summary: Free intracellular calcium represents a critical signaling mediator in a number of biological systems. Calcium cations (Ca^{2+}) are an important ubiquitous messenger, controlling a broad range of cellular processes. Free cytosolic calcium concentration ($[Ca^{2+}]_i$) is controlled by mechanisms that regulate Ca^{2+} entry from the extracellular space and Ca^{2+} release from intracellular stores, and by the activity of ATP-dependent Ca^{2+} pumps and antiporters that move Ca^{2+} back into stores or out of cells. Chronic kidney disease is associated with a significant elevation in $[Ca^{2+}]_i$, which is toxic to the cells and may be responsible for a multiple organ dysfunction. Disturbances in cellular calcium homeostasis in patients with chronic kidney disease represent a complex process. Our studies elucidate pathophysiological mechanisms of altered cellular calcium homeostasis in the peripheral blood mononuclear cells which represent the model of nonexcitable cells in patients with chronic kidney disease. The results demonstrate that $[Ca^{2+}]_i$ is significantly increased in peripheral blood mononuclear cells already in early stages of chronic kidney disease. The calcium concentration of intracellular stores and the capacitative calcium entry into the cells of these patients are significantly higher in comparison with healthy volunteers. Also the pore-forming $P2X_7$ receptors participate in increased $[Ca^{2+}]_i$ in peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic kidney disease. An altered $P2X_7$ receptor function and increased $P2X_7$ receptor expression may contribute to the complex disturbances in intracellular calcium homeostasis in chronic kidney disease. On the other hand, the activity of plasmatic membrane Ca^{2+} -ATPases which is responsible for removing excessive calcium out of the cell, was found to be decreased by 25 % when compared to healthy subjects. It means that not only the mechanisms of entry, but also of the removal are impaired by the disease. All these alterations in calcium signaling are contributing very likely to the elevated $[Ca^{2+}]_i$ from early stages of chronic kidney disease.

Key words: intracellular calcium – chronic kidney disease – calcium signaling and regulation

Úvod

Vápnikové katióny (Ca^{2+}) majú významnú úlohu vo vnútrobunkovej signalizácii mnohých fyziologických procesov. Sú centrálnou veličinou, od ktorej závisia takmer všetky regulačné mechanizmy bunky. Rozloženie Ca^{2+} v bunke je presne regulované transportnými systémami udržiavajúcimi

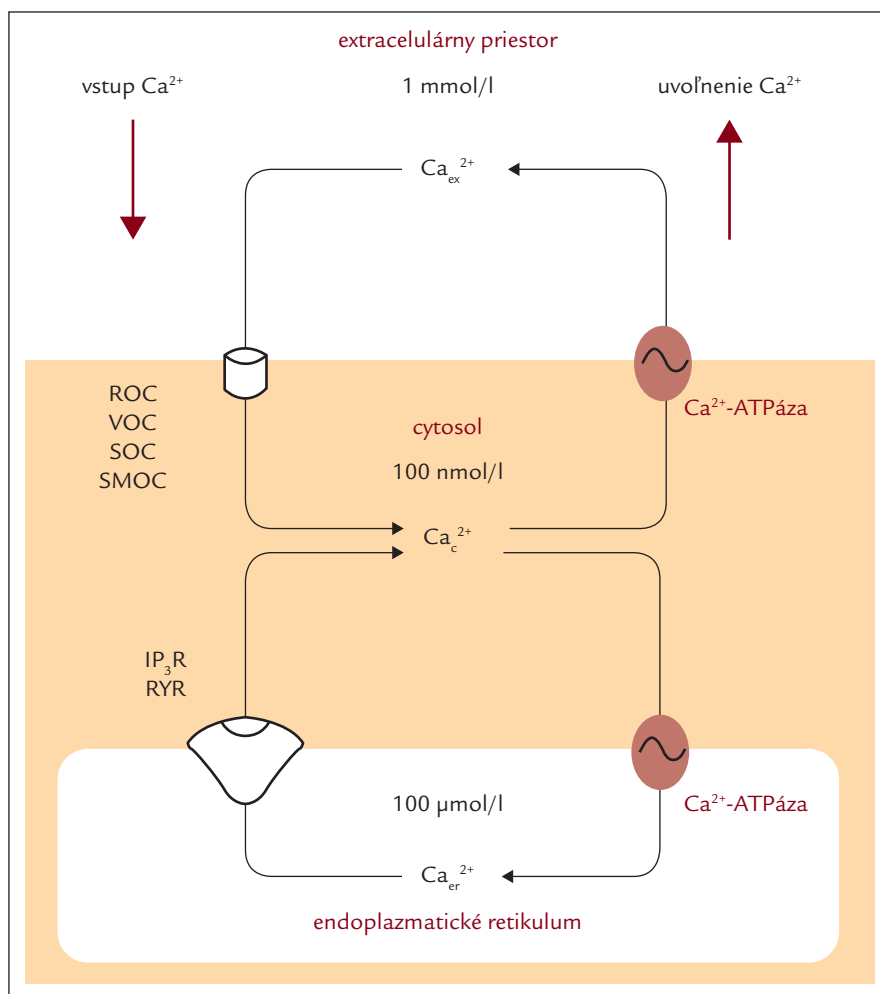
nízkú koncentráciu voľného cytosolového vápnika ($[Ca^{2+}]_i$) (50–100 nmol/l) v porovnaní s extracelulárnou koncentráciou Ca^{2+} (okolo 1,3 mmol/l). Vápniková homeostáza bunky je regulovaná vstupom Ca^{2+} rôznymi typmi vápnikových/katiónových kanálov plazmatickej membrány, uvoľnením Ca^{2+} z intracelulárnych kompartmentov, aktívnym

prenosom Ca^{2+} -ATPázami a sodíko-vo-vápnikovými výmennými prenášačmi, ktorými sa Ca^{2+} transportuje do intracelulárnych zásobníkov (endoplazmatické retikulum, mitochondria, vezikuly, jadro) alebo sa odčerpáva z buniek do extracelulárneho priestoru. Prechodné zvýšenie $[Ca^{2+}]_i$, ktorými bunka odpovedá na extrace-

lulárne podnety, je nevyhnutným signálom pre životne dôležité procesy od krátkotrvajúcich (kontrakcia, sekrécia) až po dlhotrvajúce (regulácia rastu, proliferácia). Pri pretrvávajúcom zvýšení $[Ca^{2+}]_i$, však môže dochádzať k ireverzibilnému poškodeniu funkcií bunky a/alebo bunkových štruktúr, prípadne až k smrti bunky apoptózou alebo nekrozou. Tieto pretrvávajúce zmeny môžu byť vyvolané vlastným ochorením a/alebo farmakami, ktoré ovplyvňujú regulačné mechanizmy bunky. Niektoré bunky reagujú na určitý podnet sériou krátkodobých, pravidelne sa opakujúcich oscilácií Ca^{2+} . Vtedy nie je kvantitatívnym signálom pre odpoveď bunky absolútna hodnota $[Ca^{2+}]_i$, ale frekvencia Ca^{2+} oscilácií.

Poruchy transportu Ca^{2+} môžu byť spôsobené defektom na rôznom stupni regulácie vápnikovej homeostázy (zníženou aktivitou Ca^{2+} -ATPáz, dysfunkciou vápnikových a kationových kanálov a/alebo zmenou ich exprese). Štúdiu mechanizmov regulácie vápnikovej homeostázy excitabilných i neexcitabilných buniek, ako aj účasti Ca^{2+} na procesoch vnútrobunkovej signalizácie, sa už dlhšiu dobu venuje zvýšená pozornosť. Z medicínskeho hľadiska je významné objasňovanie vzťahu medzi funkciou jednotlivých typov vápnikových, resp. kationových kanálov a niektorými chronickými ochoreniami ako ateroskleróza, hypertenzia, choroby obličiek a osteoporóza, pričom sa skúmajú aj možnosti terapeutického využitia inhibítorov týchto kanálov [1].

Je známym faktom, že $[Ca^{2+}]_i$ je u hemodialyzovaných (HD) pacientov zvýšená a je modulovaná rôznymi parametrami, ktoré zahŕňajú stupeň anémie, porušenie metabolizmu vápnika a minerálov, trvanie dialyzačnej terapie [2,3]. Poznatky o vzťahu chronického ochorenia obličiek (CKD) a intracelulárnej vápnikovej homeostázy, ako aj jej regulácie, sú však nedostatočné a vo včasných štádiách tohto ochorenia chýbajú. Cieľom našich štúdií bolo zistiť a porovnať stav intracelulárnej koncentrácie vápnika a jeho



Obr. 1. Základný mechanizmus udržiavania vápnikovej homeostázy bunky [4]. Kanály plazmatickej membrány: ROC – receptor operated channel, VOC – voltage operated channel, SOC – store operated channel, SMOc – second messenger operated channel; kanály endoplazmatického retikula: IP₃R – IP₃ (inositol trifosfát) receptor, RYR – ryanodínový receptor.

zásob, sledovať zmeny v regulácii základných mechanizmov podieľajúcich sa na udržiavaní vápnikovej homeostázy bunky, ako je funkčnosť a expresia vybraných vápnikových/kationových kanálov, aktivita plazmatických Ca^{2+} -ATPáz u zdravej populácie a pacientov s chronickým ochorením obličiek v štádiu 2–3.

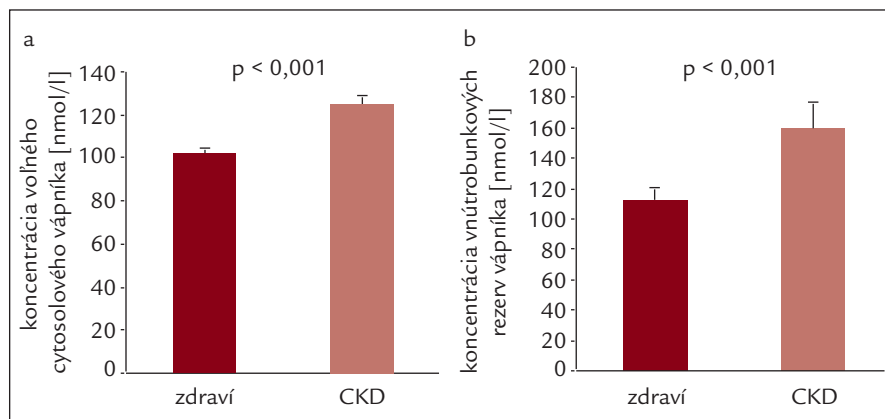
Základný mechanizmus bunkovej vápnikovej homeostázy – fyziologický stav

Vápnik vstupuje do bunky z extracelulárneho priestoru v smere koncentračného gradientu rôznymi typmi kanálov. Ich priepustnosť môže byť regulovaná zmenami elektrického potenciálu plazmatickej membrány alebo

informačnými molekulami. Z vnútrobunkových rezerv sú Ca^{2+} uvoľňované do cytosolu kanálmi lokalizovanými na membráne endoplazmatického/sarkoplazmatického retikula. Toto uvoľnenie Ca^{2+} nastáva po aktivácii receptora plazmatickej membrány, ktorý stimuluje tvorbu intracelulárnych poslov. Z cytosolu bunky sa Ca^{2+} odčerpáva aktívnym transportom Ca^{2+} -ATPázami a sodíkovo-vápnikovými výmenníkmi do extracelulárneho priestoru a endoplazmatického retikula proti koncentračnému gradientu (obr. 1) [4].

Intracelulárna koncentrácia vápnika a CKD

Intracelulárnu koncentráciu vápnika sme sledovali v periférnych mono-



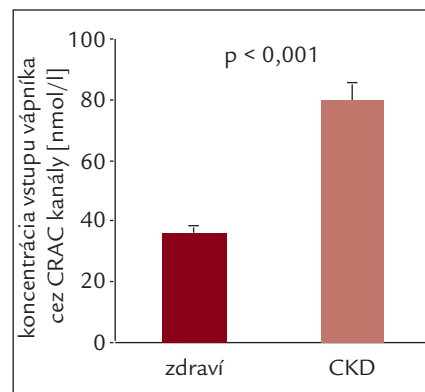
Graf 1. Porovnanie a) koncentrácie voľného cytosolového vápníka PBMCs zdravých dobrovoľníkov a pacientov s CKD; b) vnútrobunkových zásob vápníka.

nukleárných bunkách (PBMCs) izolovaných z heparinizovanej krvi zdravých dobrovoľníkov a pacientov s CKD v štádiu 2–3. Už v tomto štádiu ochorenia dochádza k štatisticky významnému zvýšeniu $[Ca^{2+}]_i$ (102 ± 1 vs $125 \pm 1,8$ nmol/l; $p < 0,001$) (graf 1a), ako aj vnútrobunkových vápníkových rezerv ($160 \pm 16,9$ vs $113 \pm 7,7$ nmol/l; $p < 0,01$) (graf 1b). $[Ca^{2+}]_i$ bola meraná fluorescenčnou spektroskopiou s použitím fluorescenčného indikátora Fluo-3 AM. Na kvantifikáciu intracelulárnych Ca^{2+} zásob bol použitý thap-

sigargin (Tg), inhibítor Ca^{2+} -ATPázy endoplazmatického retikula [5]. Celkový status Ca^{2+} v bunke je u pacientov v skorých štádiách CKD zvýšený, čo poukazuje aj na zmenu bunkových mechanizmov podieľajúcich sa na udržiavaní vápnikovej homeostázy buniek. Ďalšou otázkou bolo, ktoré základné mechanizmy sa podieľajú na tomto stave buniek.

Vstup vápníka a CKD

Na zvýšenej $[Ca^{2+}]_i$ sa podieľa predovšetkým vtok Ca^{2+} do bunky

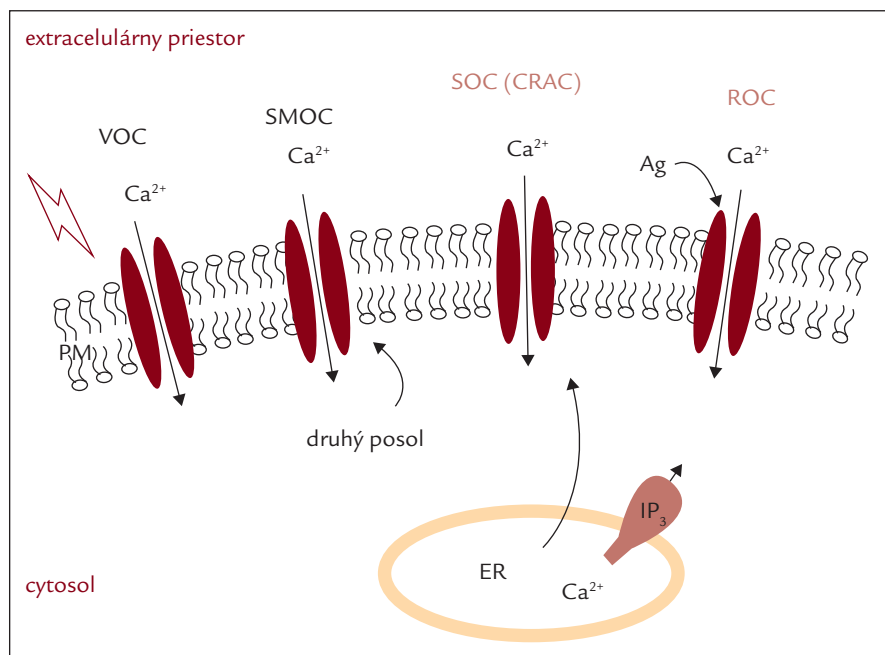


Graf 2. Vstup vápníka prostredníctvom CRAC kanálov je signifikantne zvýšený u pacientov v skorých štádiách CKD.

(obr. 2) [6]. Pre neexcitabilné bunky je charakteristický vstup Ca^{2+} prostredníctvom vápníkových kanálov nezávislých od napätia, ktoré sú aktivované uvoľnením vápníka z intracelulárnych priestorov – SOC kanály. V lymfocytoch sa tento typ kanálov nazýva CRAC (Calcium Release-Activated Calcium) kanály. Vstup Ca^{2+} prostredníctvom CRAC kanálov aktivuje príslušné transkripčné faktory, čím reguluje expresiu génov pre cytokíny, ktoré sú zodpovedné za imunitnú odpoveď [7]. Dysregulácia Ca^{2+} homeostázy spôsobená zmenami funkcie práve tohto typu kanálu bola zistená pri neurodegeneratívnych ochoreniach ako Alzheimerova choroba, u imuno-deficientných pacientov, pri akútnej pankreatitíde a polycystických obličkách [8–11].

Vstup Ca^{2+} do PBMCs cez CRAC kanály bol kvantifikovaný ich nepriamou aktiváciou (uvoľnením Ca^{2+} z endoplazmatického retikula použitím Tg) a následnou inhibíciou CRAC kanálu 2APB (2 aminoetoxydifenyl borát). Vstup Ca^{2+} prostredníctvom tohto kanálu bol u CKD pacientov zvýšený v porovnaní so zdravými dobrovoľníkmi ($80 \pm 5,9$ nmol/l vs $36 \pm 2,7$ nmol/l; $p < 0,001$) (graf 2).

Mnohé doterajšie štúdie ukázali, že na aktiváciu a proliferáciu T-lymfocytov má vplyv aj L-typ Ca^{2+} kanálov závislých od napätia [12]. Neexcitabilné bunky exprimujú Ca^{2+} kanály, ktoré majú zhodné štruktúrne vlastnosti s napä-

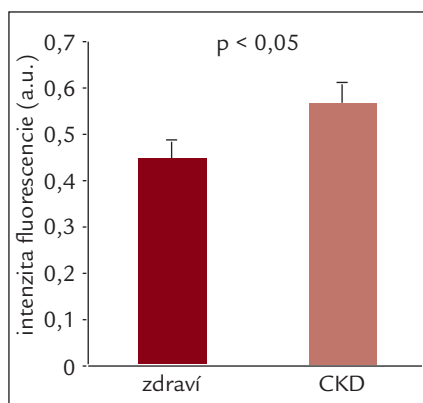


Obr. 2. Vstup vápníka do bunky [6]. PM – plazmatická membrána, ER – endoplazmatické retikulum, IP_3 – inositol trifosfát, ROC – receptor operated channel, VOC – voltage operated channel, SOC – store operated channel, CRAC – calcium release activated calcium channel, SMOC – second messenger operated channel, Ag – agonista.

ťovo-závislými Ca^{2+} kanálmi elektricky excitabilných buniek, ale neotvárajú sa zmenou membránového potenciálu. Existencia L-typu Ca^{2+} kanálov v lymfocytoch v pokojovom stave však bola potvrdená až v roku 2003 [13].

Extracelulárne puríny (adenozín, ADP a ATP) sú dôležitými signalizačnými molekulami, ktoré sprostredkovávajú rôzne biologické účinky (kontrakcia hladkých svalov, neurotransmisia, exokrinná a endokrinná sekrécia, zápal, imunitné odpovede, agregácia krvných doštičiek, bolesť, modulácia srdcových funkcií, atď.) prostredníctvom receptorov na povrchu bunkovej membrány. Na aktivácii lymfocytov sa podieľajú purínové receptory patriace do skupiny P2X receptorov [14]. Bolo identifikovaných sedem podtypov P2X receptorov P2X_1 – P2X_7 [15], pričom P2X_7 receptor je charakteristický hlavne pre bunky imunitného systému, erytrocyty, bunky obličiek, osteoblasty, hepatocyty [16].

P2X_7 receptory sú bifunkčné receptory, ktoré po aktivácii otvárajú kationový kanál a následne neselektívny cytolýtický pór. Permeabilita tohto póru závisí od typu buniek (lymfocyty – molekuly s molekulovou hmotnosťou do 320 Da, žirné bunky, makrofágy do 900 Da). Po aktivácii P2X_7 receptora dochádza k depolarizácii bunkovej membrány, vstupu kationov (Na^+ , Ca^{2+}) do bunky a výstupu K^+ do extracelulárneho priestoru, zvyšuje sa $[\text{Ca}^{2+}]_i$, čo spúšťa intracelulárnu signalizačnú kaskádu. P2X_7 receptory sprostredkovávajú spustenie zápalovej reakcie a jej kontrolu reguláciou exprese zápalových mediátorov. Kľúčovým faktorom P2X_7 -dependentnej cytotoxicity je masívne pretrvávajúce zvýšenie $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Toto zvýšenie môže viesť k „blebbing“ membrány a smrti bunky apoptózou alebo nekrozou. Vzťah P2X_7 receptorov k niektorým typom ochorení, ako reumatoidná artritída, chronická obštrukčná choroba pľúc, neurologické choroby,



Graf 3. Porovnanie exprese P2X_7 receptorov zdravých dobrovoľníkov a pacientov s CKD.

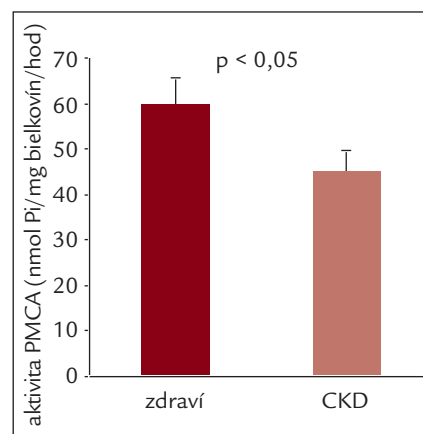
nefropatie, hypertenzia, chronická leukémia z B-lymfocytov, sa intenzívne študuje [17–20].

V našej štúdii sme porovnávali vstup Ca^{2+} prostredníctvom P2X_7 receptorov v PBMCs zdravých dobrovoľníkov a pacientov s CKD. Sledovanie funkčnosti týchto receptorov pozostávalo z merania účinku aktivátora a inhibítora P2X_7 receptorov na kationový kanál a funkčnosť jeho póru, meraním fluorescence etídiu bromidu. Zistili sme, že funkčnosť „pore-forming“ P2X_7 receptorov je u pacientov s CKD zmenená [21]. Kationový kanál aj pór sú čiastočne otvorené a nereagujú dostatočne citlivo na aktivátory a inhibítory.

Nedávne štúdie poukazujú na fakt, že P2X_7 receptory sú v bunkách odlišne exprimované za fyziologických a patologických podmienok [22,23]. V lymfocytoch pacientov s CKD v štádiu 2–3 bola expresia P2X_7 receptorov 1,3-násobne zvýšená v porovnaní so zdravými bunkami (graf 3) [24]. Na zvýšenom vstupe Ca^{2+} v PBMCs pacientov sa teda P2X_7 receptory podieľajú nielen zmenenou funkčnosťou, ale aj ich zvýšenou expresiou.

Plazmatické Ca^{2+} -ATPázy a CKD

Úlohou plazmatických Ca^{2+} -ATPáz (PMCA) je odčerpávať Ca^{2+} z bunky do extracelulárneho priestoru. Tento proces prebieha proti koncentračnému gradientu, preto je pre jeho uskutočnenie potrebná energia z ATP. Znížením aktivity PMCA dochádza k nahroma-



Graf 4. Zníženie aktivity PMCA v erytrocytoch pacientov s CKD.

deniu Ca^{2+} v bunke a následne k ovplyvneniu ďalších vnútrobunkových procesov. Ca^{2+} -ATPázy sú lokalizované nielen na plazmatickej membráne, ale aj na membránach ďalších intracelulárnych organel, preto sú erytrocyty najlepším modelom na štúdium vlastností plazmatickej membrány, a tým aj aktivity PMCA. Gafter et al sledovali aktivitu PMCA u pacientov s terminálnym zlyhaním obličiek, kde zaznamenali jej 50 % pokles [25]. Znížená aktivita PMCA bola zistená aj u detí s CKD v štádiu 2–4, pričom pokles aktivity PMCA inverzne koreloval s $[\text{Ca}^{2+}]_i$ [26]. V našej štúdii sme potvrdili predpoklad, že aktivita PMCA CKD pacientov v štádiu 2–3 je znížená a v porovnaní so zdravými dobrovoľníkmi klesla o 25 % (graf 4) [24]. Výsledky spomínaných štúdií svedčia o tom, že s progresiou ochorenia dochádza k poklesu aktivity PMCA.

Diskusia

Pri CKD sú poruchy vápnikového metabolizmu bežné a vyvíjajú sa už vo včasnej fáze ochorenia spolu s poruchami fosfátov, vitamínu D a následným rozvojom sekundárnej hyperparatyreózy. Viacerí autori už v minulosti predpokladali, že parathormón (PTH) je uremický toxín [27], ktorý sa v pokročilej renálnej insuficiencii podieľa na vývoji rôznych porúch ako uremická neuropatia, kardiálna dysfunkcia, poruchy imunity a iné. Túto hypotézu podporuje aj nález zvýšeného

obsahu vápnika v myokarde a iných tkanivách (mozog, pankreas, polymorfonukleárne leukocyty, T bunky, krvné doštičky) v klinických [28,29] aj experimentálnych štúdiách [30,31]. Vzostup $[Ca^{2+}]_i$ indukovaný PTH v kostrovom svalu a srdci je spojený so zníženou spotrebou kyslíka, čo má za následok zníženú tvorbu ATP. Pokles ATP vedie k zníženiu aktivity ATP dependentných enzýmov, ktoré sa podieľajú na transporte Ca^{2+} z bunky do extracelulárneho priestoru. Zvýšená $[Ca^{2+}]_i$ v lymfocytoch pacientov s chronickým zlyhaním obličiek je výsledkom zvýšeného vstupu Ca^{2+} do bunky a zníženého výstupu Ca^{2+} z bunky pri poklese aktivity Ca^{2+} -ATPázy a Na^+-K^+ -ATPázy [32]. Pri hodnotení viacerých parametrov Kárpáti et al zistili, že $[Ca^{2+}]_i$ v polymorfonukleárných leukocytoch u dialyzovaných pacientov koreluje so zvýšenou sérovou koncentráciou intaktného PTH a fosfátov a zníženou sérovou koncentráciou vápnika [2]. Významná pozitívna korelácia sa zistila aj s dĺžkou dialyzačnej liečby. Paratyreoidektómia znižuje $[Ca^{2+}]_i$ v polymorfonukleárných leukocytoch CKD pacientov, ale nenormalizuje ju [33]. Predpokladá sa, že okrem PTH sa na vzostupe $[Ca^{2+}]_i$ podieľajú aj ďalšie faktory.

Nie sú dostupné práce, ktoré sa komplexne a systematicky zaoberajú štúdiom mechanizmov regulácie bunkovej vápnikovej homeostázy u pacientov s CKD. Sú publikované len čiastočné sledovania u dialyzovaných pacientov. Poruchy minerálneho a kostného metabolizmu, ako aj ďalšie komplikácie sa u pacientov vyvíjajú už vo včasných štádiách CKD. Preto sme sa zamerali na štúdium mechanizmov regulácie vápnikovej homeostázy práve u týchto pacientov. Sledovali sme mechanizmy udržiavania rovnováhy medzi vstupom Ca^{2+} do bunky a jeho odčerpávaním do extracelulárneho priestoru a/alebo do intracelulárnych rezerv. Zaznamenali sme zvýšenie $[Ca^{2+}]_i$

a tiež rezerv Ca^{2+} v endoplazmatickom retikule. Na tomto zvýšení sa podieľa zvýšený vstup katiónov vápnika do bunky prostredníctvom CRAC kanálu a $P2X_7$ receptorov, ktoré majú zmenenú funkčnosť a vo zvýšenej miere sa exprimujú. Okrem zvýšenia vstupu Ca^{2+} z extracelulárneho priestoru, dochádza aj k zníženiu aktivity PMCA, a tým zníženiu výstupu Ca^{2+} z bunky. Predpokladáme, že zmenená bunková homeostáza vápnika je u pacientov v skorých štádiách CKD modulovaná nielen poruchou minerálneho metabolizmu, ale aj ďalšími komplikáciami, ktoré sa u týchto pacientov vyvíjajú. Dôležitou otázkou zostáva zistiť vplyv farmakoterapie používanej u týchto pacientov na jednotlivé, v súčasnosti už známe, mechanizmy vápnikovej signalizácie, čo by v budúcnosti mohlo viesť k cielenejšej terapii na spomalenie progresie renálneho ochorenia.

Literatúra

- Donnadieu E, Bismuth G, Trautmann A. Calcium fluxes in T lymphocytes. *J Biol Chem* 1992; 267: 25864–25872.
- Kárpáti I, Seres I, Mátyus J et al. Which parameters affect cytosolic free calcium in polymorphonuclear leukocytes of haemodialysis patients? *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 1409–1415.
- Koorts AM, Kruger MC, Potgieter CD et al. Intracellular free calcium in the neutrophils of maintenance haemodialysis patients. *Clin Physiol* 2002; 22: 285–294.
- Berridge MJ. Elementary and global aspects of calcium signalling. *J Exp Biol* 1997; 200: 315–319.
- Lajdová I, Spustová V, Okša A et al. Intracellular calcium homeostasis in patients with early stages of chronic kidney disease: effects of vitamin D3 supplementation. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 3376–3381.
- Parekh AB, Putney AB Jr. Store-operated calcium channels. *Physiol Rev* 2005; 85: 757–810.
- Lewis RS. Calcium signaling mechanisms in T lymphocytes. *Ann Rev Immunol* 2001; 19: 497–521.
- Mattson MP, Chan SL. Neuronal and glial calcium signaling in Alzheimer's disease. *Cell Calcium* 2003; 34: 385–397.
- Partiseti M, Ledesit F, Hivroz C et al. The calcium current activated by T cell receptor and store-depletion in human lymphocytes is absent in a primary immunodeficiency. *J Biol Chem* 1994; 269: 32327–32335.
- Raraty M, Ward J, Erdemli G et al. Calcium-dependent enzyme activation and vacuole formation in the apical granular region of pancreatic acinar cells. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 2000; 97: 13126–13131.
- Somlo S, Ehrlich B. Human disease: calcium signaling in polycystic kidney disease. *Curr Biol* 2001; 11: R356–R360.
- Gelfand EW, Cheung RK, Grinstein S et al. Characterization of the role for calcium influx in mitogen-induced triggering of human T cells. Identification of calcium-dependent and calcium-independent signals. *Eur J Immunol* 1986; 16: 907–912.
- Kotturi FM, Douglas AC, Lee JC et al. Identification and functional characterization of voltage-dependent calcium channels in T lymphocytes. *J Biol Chem* 2003; 278: 46949–46960.
- Baricordi OR, Ferrari D, Melchiorri L et al. An ATP-activated channel is involved in mitogenic stimulation of human lymphocytes. *Blood* 1996; 87: 682–690.
- Ralevic V, Burnstock G. Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol Rev* 1998; 50: 413–492.
- North AR. Molecular physiology of $P2X$ receptors. *Physiol Rev* 2002; 82: 1013–1067.
- Vonend O, Turner CM, Chan ChM et al. Glomerular expression of ATP-sensitive $P2X_7$ receptor on diabetic and hypertensive rat models. *Kidney Int* 2004; 66: 157–166.
- Jorgensen NR, Henriksen Z, Sorensen OH et al. Intracellular calcium signaling occurs between human osteoblasts and osteoclasts and requires activation of osteoclast $P2X_7$ receptors. *J Biol Chem* 2002; 277: 7574–7580.
- Di Virgilio F, Sollini A. $P2$ receptors: new potential players in atherosclerosis. *British J Pharm* 2002; 135: 831–842.
- Gu BJ, Zhang WY, Bendall LJ et al. Expression of $P2X_7$ purinoceptors on human lymphocytes and monocytes: evidence for nonfunctional $P2X_7$ receptors. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 279: C1189–C1197.
- Lajdová I, Okša A, Chorvat D Jr et al. Purinergic $P2X_7$ receptors participate in disturbed intracellular calcium homeostasis in peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic kidney disease. *Kidney Blood Press Res* 2012; 35: 48–57.
- Al-Shukaili A, Al-Kaabi J, Hassan B. A comparative study of interleukin- 1β production and $P2X_7$ expression after Atp stimulation by peripheral blood mononuclear cells isolated from rheumatoid arthritis patients and normal healthy controls. *Inflammation* 2008; 31: 84–90.
- Franco-Martinez S, Nino-Moreno P, Bernal-Silva S et al. Expression and function of the purinergic receptor $P2X_7$ in patients with pulmonary tuberculosis. *Clin Exp Immunol* 2006; 146: 253–261.
- Kaderjakova Z, Lajdová I, Horvathova M et al. Effect of chronic kidney disease on blood cells membrane properties. *Bioelectrochemistry* 2012; doi:10.1016/j.bioelechem.2012.02.006.

25. Gafter U, Malachi T, Barak H et al. Red blood cell calcium homeostasis in patients with end-stage renal disease. *J Lab Clin Med* 1989; 114: 221–231.
26. Polak-Jonkisz D, Purzyc L, Laszki-Szcza K et al. The endogenous modulators of Ca^{2+} - Mg^{2+} -dependent ATPase in children with chronic kidney disease (CKD). *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 438–444.
27. Massry SG. Is parathyroid hormone a uremic toxin? *Nephron* 1977; 19: 125–130.
28. Rostand SG, Sanders C, Kirk KA et al. Myocardial calcification and cardiac dysfunction in chronic renal failure. *Am J Med* 1988; 85: 651–657.
29. Raine AEG, Bedford L, Simpson AWM et al. Hyperparathyroidism, platelet intracellular free calcium and hypertension in chronic renal failure. *Kidney Int* 1993; 43: 700–705.
30. Kraikpanitch S, Linderman RD, Yoenice AA et al. The effect of azotemia and myocardial accumulation of calcium. *Miner Electrol Metab* 1978; 1: 12–20.
31. Massry SG, Fadda GZ. Chronic renal failure is a state of cellular calcium toxicity. *Am J Kidney Dis* 1993; 21: 81–86.
32. Ori Y, Korzets A, Malachi T et al. Impaired lymphocyte calcium metabolism in end-stage renal disease: enhanced influx, decreased efflux, and reduced response to mitogen. *J Lab Clin Med* 1999; 133: 391–400.
33. Deicher R, Kirsch B, Müllner M et al. Impact of parathyroidectomy on neutrophil cytosolic calcium in chronic kidney disease patients: a prospective parallel group trial. *J Int Med* 2005; 258: 67–76.

RNDr. Ingrid Lajdová, PhD.

www.szu.sk

e-mail: ingrid.lajdova@szu.sk

Doručeno do redakcie: 18. 5. 2012