

Suplementácia vitamínu D₃ a bunková homeostáza vápnika u pacientov pri chronickej chorobe obličiek

Ingrid Lajdová, Adrián Okša, Viera Spustová

Ústav farmakológie, klinickej a experimentálnej farmakológie LF SZU, Bratislava, Slovenská republika

Súhrn

V práci sumarizujeme výsledky našich štúdií zameraných na objasnenie patofyziologických mechanizmov zmenenej homeostázy vápnika v neexcitabilných bunkách pacientov v skorých štádiách chronickej choroby obličiek (CKD) a zistenie vplyvu suplementácie vitamínu D₃ na tieto mechanizmy. Základné mechanizmy vstupu vápnika, ako aj jeho odčerpávania z bunky sú už v skorých štádiách CKD zmenené. Tieto poruchy spôsobujú zvýšenie koncentrácie voľného cytosolového vápnika ($[Ca^{2+}]_i$), čo môže viesť k zmene mnohých bunkových procesov a expresii rôznych signálnych molekúl. Suplementácia vitamínu D je štandardný postup korekcie nedostatku/deficitu vitamínu D u pacientov v skorých štádiách CKD, pričom pleiotropné účinky vitamínu D sa môžu podieľať na modulácii bunkovej homeostázy vápnika. Suplementácia vitamínu D₃ mala za následok zníženie $[Ca^{2+}]_i$ ovplyvnením niektorých transportných systémov vstupu katiónov vápnika do bunky a jeho odčerpávania z bunky. Normalizácia $[Ca^{2+}]_i$ môže mať priaznivý účinok na intracelulárnu signalizáciu, a tým pozitívne ovplyvňovať funkčnosť buniek, tkanív, resp. orgánov.

Kľúčové slová: bunková homeostáza vápnika – chronická choroba obličiek – intracelulárny vápnik – vitamín D

Vitamin D₃ supplementation and cellular calcium homeostasis in patients with chronic kidney disease

Summary

Mini review summarizes the results of our studies focused on elucidation of the pathophysiological mechanisms of altered calcium homeostasis in nonexcitable cells from patients with early stages of chronic kidney disease (CKD), as well as on determining the effect of vitamin D₃ supplementation on these mechanisms. The basic mechanisms of calcium entry to and removal of the cell are already changed in early stages of CKD. These disturbances cause an increased the concentration of cytosolic free calcium ($[Ca^{2+}]_i$), which may change a number of cellular processes, and the expression of various signaling molecules. Vitamin D₃ supplementation is a standard procedure of vitamin D insufficiency/ deficiency correction in these patients. The pleiotropic effects of vitamin D may be involved in the modulation of cellular calcium homeostasis. Vitamin D₃ supplementation resulted in a reduction in $[Ca^{2+}]_i$ by affecting of specific transport systems of calcium cations entry to and removal of the cell. The normalization $[Ca^{2+}]_i$ can have a beneficial effect on intracellular signalling, and thus positively influence the functioning of cells, tissues or organs.

Key words: cellular calcium homeostasis – chronic kidney disease – intracellular calcium – vitamin D

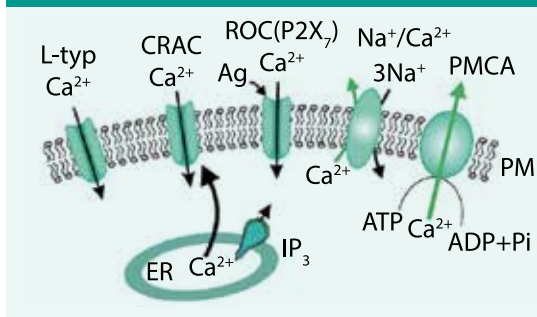
Úvod

Nedostatok vitamínu D sa často vyskytuje v bežnej populácii aj u pacientov s chronickou chorobou obličiek (CKD) a je významným rizikovým faktorom pre rozvoj rôznych chronických ochorení. U pacientov s CKD sa odporúča podľa súčasných smerníc korigovať poruchu suplementáciou natívneho vitamínu D (cholecalciferol, ergocalciferol). U pacientov s progresívne stúpajúcou koncentráciou parathormónu sa odporúča liečba kalcitriolom alebo analógmi vitamínu D [1]. Dôležitou úlohou endokrinného systému vitamínu D je regulácia mine-

rálneho a kostného metabolizmu a udržiavanie homeostázy vápnika a fosforu v organizme [2,3]. Okrem týchto klasických účinkov má vitamín D aj nekalciotropné účinky, ktoré sú sprostredkované extrarenálnou syntézou 1,25(OH)₂D₃ v mnohých tkanivách a orgánoch, v ktorých pôsobí autokrinne/parakrinne. Väzbou na receptor vitamínu D (VDR) zabezpečuje „neklasické“ účinky vitamínu D, ako sú vplyv na proliferáciu a diferenciáciu buniek, imunitné funkcie atď. [4]. V obličkách tieto účinky vedú k zmierneniu poškodenia potlačením fibrózy, zápalu a apoptózy [5,6].

Chronická choroba obličiek je spojená s významným zvýšením koncentrácie voľného cytosolového vápnika ($[Ca^{2+}]_i$), ktoré je pre bunky toxické a môže byť zodpovedné za multiorgánové dysfunkcie [7,8]. Vápnikové katióny (Ca^{2+}) majú dôležitú úlohu v bunkovej signalizácii mnohých fyziologických procesov. V prenose subcelulárnych signálov je dôležitá distribúcia vápnikových/katiónových kanálov, Ca^{2+} -ATPáz a výmenných systémov, ich vzájomná komunikácia a koordinácia. Výsledkom je prísne udržiavaná a regulovaná $[Ca^{2+}]_i$. Prechodné zvýšenie $[Ca^{2+}]_i$ je nevyhnutným signálom pre fyziologickú funkčnosť buniek a jej odpoveď na vonkajšie podnety, pretrvávajúce zvýšenie však môže spôsobiť ireverzibilné poškodenie funkcií buniek prípadne ich smrť. Homeostáza Ca^{2+} je v bunkách udržiavaná mechanizmami, ktoré regulujú vstup Ca^{2+} z extracelulárneho priestoru

Schéma. Základné mechanizmy prenosu vápnika cez plazmatickú membránu neexcitabilných buniek [47]



ADP – adenosín difosfát Ag – agonista ATP – adenosín trifosfát
CRAC – calcium release activated calcium channel ER – endoplazmatické retikulum IP₃ – inositol trifosfát L-typ – L-typ vápnikového kanála Na⁺/Ca²⁺ – sodíkovo-vápnikový výmenný systém Pi – anorganický fosfát PM – plazmatická membrána PMCA – Ca²⁺-ATPáza plazmatickej membrány ROC – receptor operated calcium channel

do bunky vápnikovými/katiónovými kanálmi plazmatickej membrány. Výstup Ca^{2+} z bunky sa uskutočňuje aktívnym prenosom Ca^{2+} -ATPázami a sodíkovo-vápnikovými výmennými systémami. Vápnikové katióny sa tiež môžu uvoľňovať z intracelulárnych kompartmentov alebo sa do nich transportovať (schéma) [9,10].

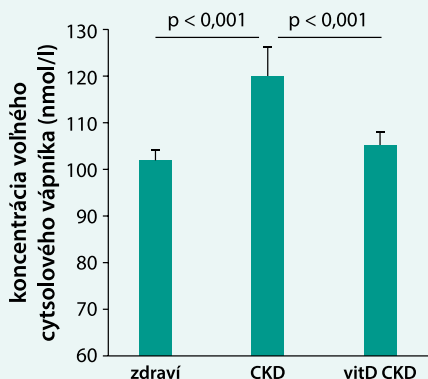
K zvýšeniu $[Ca^{2+}]_i$ ako aj koncentrácie Ca^{2+} v intracelulárnych kompartmentoch dochádza už v skorých štádiách CKD. Tiež mechanizmy udržiavania bunkovej vápnikovej homeostázy sú u pacientov v skorých štádiách CKD v porovnaní so zdravými subjektmi zmenené [11–14]. Je len málo informácií o regulačných mechanizmoch vápnikovej homeostázy na bunkovej úrovni a možnostiach ich ovplyvnenia v počiatočných štádiách tejto choroby. Preto sme sa v našich nedávnych štúdiách zamerali na objasnenie týchto mechanizmov, ako aj na zistenie vplyvu suplementácie vitamínu D₃ na stav intracelulárnej koncentrácie vápnika a základné regulačné mechanizmy udržiavania bunkovej homeostázy vápnika u pacientov s CKD.

Vitamín D₃ a intracelulárna koncentrácia vápnika

Intracelulárna koncentrácia vápnika zahŕňa koncentráciu voľného cytosolového vápnika ($[Ca^{2+}]_i$), zodpovedného za prenos signálu a koncentráciu vápnika v intracelulárnych kompartmentoch. V intracelulárnych kompartmentoch je uchovávaný prebytočný vápnik, ktorý je za určitých podmienok uvoľňovaný do cytosolu, čím sa zúčastňuje prenosu signálov v bunke. Pre niektoré fyziologické procesy môžu mať práve tieto zásoby vápnika rozhodujúci význam [10,15,16]. Intracelulárne zásoby Ca^{2+} sú viazané na proteíny, ich prevažná časť sa nachádza v endoplazmatickom/sarkoplazmatickom retikule, menej v mitochondriách, vezikulách a jadre. Naše predchádzajúce štúdie ukázali, že už v počiatočnom štádiu CKD je významne zvýšená $[Ca^{2+}]_i$ ako aj koncentrácia Ca^{2+} v intracelulárnych

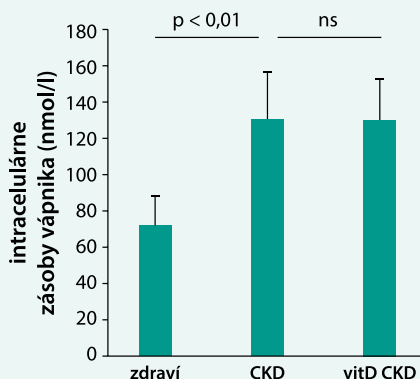
Graf 1. Voľný cytosolový vápnik

$[Ca^{2+}]_i$ bola meraná fluorescenčnou spektroskopiou v periférnych mononukleárných bunkách (PBMC) izolovaných z krvi zdravých jedincov a pacientov s CKD v štádiu 2–3 pred a po suplementácii vitamínu D₃ [13,17].



Graf 2. Intracelulárne zásoby vápnika

Porovnanie Tg-senzitívnych intracelulárnych zásob vápnika zdravých jedincov a pacientov s CKD pred a po suplementácii. Na kvantifikáciu intracelulárnych zásob Ca^{2+} bol použitý špecifický inhibítor Ca^{2+} -ATPázy endoplazmatického retikula, thapsigargin (Tg) [13,17].

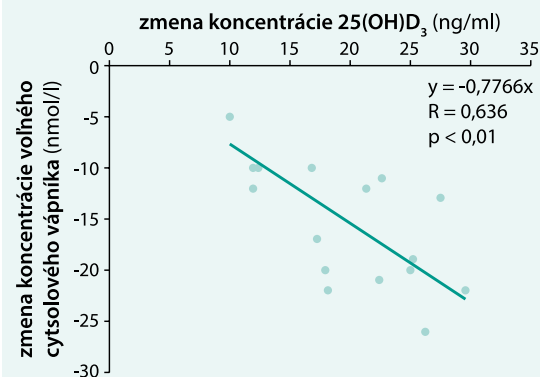


kompartmentoch, čo poukazuje na zmeny vo vápnikovej signalizácii buniek a zmenené niektoré regulačné mechanizmy udržiavania bunkovej Ca²⁺ homeostázy [13]. Po 6-mesačnej suplementácii vitamínu D₃ poklesla [Ca²⁺]_i na hodnoty porovnateľné s hodnotami zdravých jedincov (graf 1), intracelulárne zásoby Ca²⁺ sa neznižili (graf 2). Koncentrácia 25(OH)D₃ u pacientov s CKD bola za bazálnych podmienok nízka (18 ± 2 ng/ml), štatisticky významne sa však zvýšila po 6-mesačnej suplementácii vitamínu D₃ (36 ± 9 ng/ml, p < 0,001), pričom absolútne zmeny [Ca²⁺]_i negatívne korelovali s absolútnou zmenou koncentrácie 25(OH)D₃ (graf 3). Suplementácia vitamínu D₃ upravuje [Ca²⁺]_i u pacientov v skorých štádiách CKD [17].

Vstup katiónov vápnika do bunky – vitamín D₃ a vápnikové/katiónové kanály CRAC kanály

Vápnik vstupuje do buniek rôznymi typmi vápnikových/katiónových kanálov. V neexcitabilných bunkách ako sú periférne mononukleárne bunky (peripheral blood mononuclear cell – PBMC), je charakteristický vstup Ca²⁺ prostredníctvom vápnikových kanálov nezávislých od napätia, ktoré sú aktivované uvoľnením Ca²⁺ z endoplazmatického retikula, CRAC kanálov (calcium release activated calcium). Vstup Ca²⁺ CRAC kanálom aktivuje príslušné transkripčné faktory, čím reguluje expresiu génov pre cytokíny zodpovedné za imunitnú odpoveď [18,19]. Dysregulácia Ca²⁺ spôsobená zmenou funkčnosti alebo expresie CRAC kanálov bola zistená pri neurodegeneratívnych ochoreniach, u imunodeficitných pacientov, pri akútnej pankreatitíde, polycystickej chorobe obličiek a srdcovej hypertrofii [18–23]. U pacientov v skorých štádiách CKD sme zaznamenali významne zvýšený vstup Ca²⁺ prostredníctvom CRAC kanálov v porovnaní so zdravými jedincami [13]. Po suplementácii vitamínu D₃ sa vstup Ca²⁺ cez tieto kanály znížil (graf 4) [17]. Vitamín D₃ teda upravuje reguláciu Ca²⁺, a tým ovplyvňuje ďalšie regulačné mechanizmy v neexcitabilných bunkách.

Graf 3. Vzťah absolútnych zmien [Ca²⁺]_i a zmien 25(OH)D₃ po 6 mesiacoch suplementácie vitamínu D₃ [17]



L-typ vápnikových kanálov

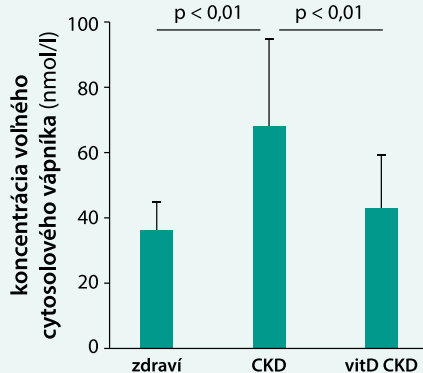
Neexcitabilné bunky exprimujú Ca²⁺ kanály, ktoré majú rovnaké štrukturálne vlastnosti ako L-typ Ca²⁺ kanálov závislých od napätia, ktoré sa nachádzajú v excitabilných bunkách. Ich prítomnosť v plazmatickej membráne kľudových lymfocytov bola potvrdená až v roku 2003 [24]. Na rozdiel od kanálov excitabilných buniek nie sú senzitivné na zmenu membránového potenciálu. Nedávne štúdie poukazujú na účasť L-typu Ca²⁺ kanálov pri vstupe Ca²⁺ v priebehu aktivácie a proliferácie T-lymfocytov. Mechanizmus ich stimulácie však stále nie je objasnený [25,26]. V súlade s doterajšími poznatkami sme sledovali vstup Ca²⁺ cez tieto kanály. V PBMC pacientov s CKD sa vstup Ca²⁺ nezmenil, nedochádzalo k jeho zvýšeniu v porovnaní s bunkami zdravých jedincov [13]. Stimulácia buniek aktívnym metabolitom vitamínu D [1,25(OH)₂D₃] nevyvolávala zmeny vo vstupe vápnika Ca²⁺ cez L-typ Ca²⁺ kanálov [27]. Vzhľadom na tento poznatok nebol sledovaný mechanizmus vstupu Ca²⁺ cez L-typ Ca²⁺ kanálov po suplementácii vitamínu D₃.

P2X₇ receptory

V súčasnej dobe je purinergná signalizácia považovaná za jeden z rozhodujúcich komponentov podieľajúcich sa na rôznych typoch chorôb. Naviazanie extracelulárnych purínov na receptory plazmatickej membrány vyvoláva intracelulárnu signalizačnú kaskádu, ktorej výsledkom je bunková odpoveď. V závislosti od typu buniek, purínové receptory sprostredkovávajú veľké množstvo biologických účinkov, ako sú exokrinná a endokrinná sekrécia, zápal, imunitné odpovede, agregácia krvných doštičiek, modulácia srdcových funkcií, kontrakcia hladkých svalov, neurotransmisia, bolesť [28–30]. Na aktivácii PBMC sa podieľajú purínové receptory patriace do skupiny P2X. Do dnešného dňa bolo identifikovaných 7 podtypov P2X receptorov. P2X₁-P2X₆ sú exprimované prevažne v neurónoch a v excitabilných bunkách. P2X₇ receptory sa nachádzajú hlavne v bunkách hemopoetického systému, kde sa podieľajú na imunitných odpovediach, bunkovej

Graf 4. CRAC kanály

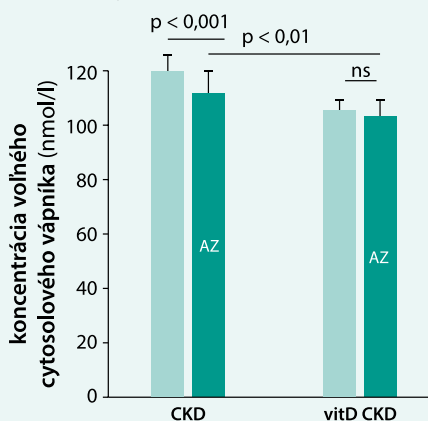
Vstup Ca²⁺ cez CRAC kanály je u pacientov v skorých štádiách CKD zvýšený, po 6-mesačnej suplementácii sa signifikantne znížil [13,17].



proliferácii a bunkovej smrti, tvorbe kostí a ich resorpcii. P2X₇ receptory pozostávajú z kationového kanálu a cytolitického póru. Po aktivácii P2X₇ receptorov dochádza za fyziologických podmienok k otvoreniu jeho kationového kanálu a následne aj k otvoreniu neselektívneho cytolitického póru, ktorý v závislosti od typu buniek prepúšťa molekuly s molekulovou hmotnosťou do 900 Da [28,31]. V súčasnosti sa intenzívne študuje vzťah P2X₇ receptorov k mnohým typom ochorení, ako reumatoidná artritída, chronická obštrukčná choroba pľúc, neurologické choroby, hypertenzia, chronická leukémia z B-lymfocytov [32–34]. Tiež bola potvrdená kľúčová úloha P2X receptorov v regulácii fyziologických a patofyziologických procesov obličiek [35]. V našich štúdiách sme

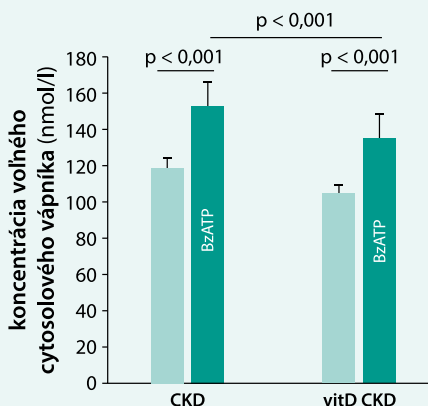
Graf 5A. Funkčnosť a expresia P2X₇ receptorov [12,17]

Aplikácia antagonistu P2X₇ receptorov (AZ11645373) na PBMC pacientov s CKD viedla k redukcii [Ca²⁺]_i, nemala však účinok po suplementácii vitamínu D₃.



Graf 5B. Funkčnosť a expresia P2X₇ receptorov [12,17]

Aplikácia agonistu purinergných P2X₇ receptorov (BzATP) zapríčinila pretrvávajúce zvýšenie [Ca²⁺]_i v PBMC CKD pacientov aj po suplementácii vitamínu D₃, avšak toto zvýšenie nedosahovalo hodnoty [Ca²⁺]_i ako pred suplementáciou. Výsledky týchto experimentov dokazujú, že suplementácia vitamínu D₃ má inhibičný účinok na vstup Ca²⁺ prostredníctvom P2X₇ kanálov.



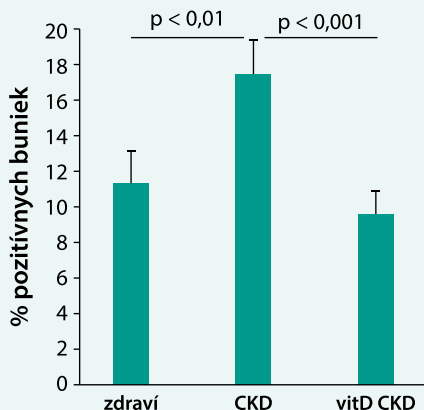
ukázali, že vstup Ca²⁺ cez P2X₇ kanály je zvýšený a priepustnosť P2X₇ pórov vzrástla. Okrem toho, funkčnosť P2X₇ kanálov aj pórov bola zmenená [12]. Aktívny metabolit vitamínu D [1,25(OH)₂D₃] v PBMC zdravých jedincov inhiboval vstup Ca²⁺ prostredníctvom P2X₇ kanálov a znížoval priepustnosť plazmatickej membrány P2X₇ pórmí [27]. Aj z tohto dôvodu sme sledovali vplyv suplementácie vitamínu D₃ na funkčnosť P2X₇ receptorov v PBMC pacientov s CKD. Suplementácia znížovala Ca²⁺ influx cez P2X₇ kanály a ovplyvňovala ich funkčnosť (graf 5A, 5B), nemala však vplyv na priepustnosť P2X₇ pórov [17]. Rozdielne účinky suplementácie na P2X₇ kanály a póry u týchto pacientov môžu byť spôsobené ich rozdielnou senzitivitou. Agonisti a antagonisti P2X₇ receptora môžu mať rozdielny vplyv na funkciu P2X₇ kanálov a pórov, ich vplyv môže byť zmenený aj pri rôznych patologických stavoch [36]. Nielen funkčnosť, ale aj expresia P2X₇ receptorov môže byť zmenená pri niektorých patologických stavoch [29,37–39]. V našej nedávnej štúdii sme zistili 1,5-násobné zvýšenie expresie P2X₇ receptorov plazmatickej membrány v PBMC pacientov s CKD v porovnaní s bunkami zdravých jedincov [12]. Suplementácia vitamínu D₃ ovplyvnila expresiu P2X₇ receptorov. Expresia sa po suplementácii znížila o 45 % (graf 5C) [17].

Výstup kationov vápníka z bunky – vitamín D₃ a Ca²⁺-ATPázy plazmatickej membrány

Plazmatické membrány majú 2 hlavné systémy, ktorými sa Ca²⁺ odčerpáva z intracelulárneho priestoru do extracelulárneho proti koncentračnému gradientu: Na⁺/Ca²⁺ výmenný systém, ktorý je aktívny najmä v excitabilných bunkách a Ca²⁺-ATPázy plazmatickej membrány (PMCA) v neexcitabilných bunkách. Aktivita PMCA je rozhodujúca pri udržiavaní nízkej [Ca²⁺]_i. Znížením jej aktivity dochádza k nahromadeniu Ca²⁺ v bunke a následne k ovplyv-

Graf 5C. Funkčnosť a expresia P2X₇ receptorov [12,17]

Expresia P2X₇ receptorov bola meraná prietokovou cytometriou s použitím protilátky anti-P2X₇ (extracellular). Porovnanie expresie P2X₇ receptorov plazmatickej membrány zdravých jedincov, pacientov v skorých štádiách CKD pred a po suplementácii vitamínu D₃.



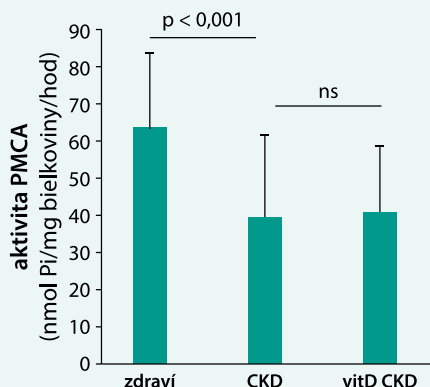
neniu ďalších vnútrobunkových procesov. Už v skorých štádiách CKD dochádza v PBMC pacientov k zníženiu aktivity PMCA o 34 % a u pacientov s terminálnym zlyhaním obličiek bol zaznamenaný pokles aktivity až o 50 % [40,41]. Tento pokles aktivity PMCA môže byť spôsobený viacerými faktormi, ako je deficit kalmódulínu, aktivita niektorých endogénnych regulátorov proteínov, inhibícia mitochondriálneho alebo glykolytického metabolismu [42]. Vstup Ca²⁺ CRAC kanálmi je tiež dôležitým regulátorom aktivity PMCA a zmenená komunikácia medzi nimi, môže byť ďalšou príčinou jej zníženej aktivity [43]. Aktivitu aj expresiu PMCA v niektorých epiteliálnych bunkách a osteoblastoch zvyšuje 1,25(OH)₂D₃ [44–46]. V experimentálnych štúdiách boli sledované priame alebo nepriame účinky 1,25(OH)₂D₃ a 24,25(OH)₂D₃ na aktivitu a expresiu PMCA, avšak účinky 25(OH)D₃ sledované neboli. V našej štúdii sa po suplementácii vitamínu D₃ aktivita PMCA u CKD pacientov nezvýšila (graf 6). Zvýšila sa však koncentrácia proteínov plazmatickej membrány o 47 %, preto nemôžeme vylúčiť možnosť zvýšenej expresie PMCA [40].

Záver

Udržiavanie bunkovej homeostázy vápnika je pre fyziologické fungovanie bunky nevyhnutné. Zmeny v regulačných mechanizmoch vápnikovej homeostázy bunky sa prejavujú zmenami v odpovediach bunky na vonkajšie podnety, a tým aj poruchou funkčnosti tkanív, resp. orgánov. U pacientov v skorých štádiách CKD viedla suplementácia vitamínu D₃ k zníženiu koncentrácie intracelulárneho vápnika ovplyvnením CRAC a P2X₇ kanálov a zníženiu expresie P2X₇ receptorov plazmatickej membrány. Benefičný účinok vitamínu D₃ je v normalizácii [Ca²⁺]_i, ktorá môže mať priaznivý účinok na intracelulárnu signalizáciu, a tým pozitívne ovplyvňovať funkčnosť buniek. Pochopenie regulačných mechanizmov bunkovej homeostázy vápnika a ich selektívne ovplyvnenie pri renálnych ale aj iných ochoreniach môže v budúcnosti viesť k cielenejšej terapii.

Graf 6. Aktivita PMCA

Porovnanie aktivity PMCA zdravých subjektov, pacientov v skorých štádiách CKD pred a po 6-mesačnej suplementácii vitamínu D₃ [11,40].



Literatúra

1. KDIGO Clinical Practice Guideline for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl.* 2009;(113): S1-S130. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/ki.2009.188>>.
2. Dusso A, Gonzalez EA, Martin KJ. Vitamin D in chronic kidney disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011; 25(4): 647–655. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.beem.2011.05.005>>.
3. Chowdhury R, Kunutsor S, Vitezova A et al. Vitamin D and risk of cause specific death: systematic review and meta-analysis of observational cohort and randomised intervention studies. *BMJ* 2014; 348: g1903. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1136/bmj.g1903>>.
4. Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. VitaminD. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289(1): F8-F28.
5. Tang J. Vitamin D and its role in chronic kidney disease. *Nephrol Rounds* 2009; 7: 1–6.
6. Liu WC, Zheng CM, Lu CL et al. Vitamin D and immune function in chronic kidney disease. *Clin Chim Acta* 2015; 450: 135–144. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2015.08.011>>.
7. Massry SG, Fadda GZ. Chronic renal failure is a state of cellular calcium toxicity. *Am J Kidney Dis* 1993; 21(1): 81–86.
8. 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(4): 391–400.
9. Berridge MJ. Elementary and global aspects of calcium signalling. *J Exp Biol* 1997; 200(Pt 2): 315–319.
10. Parekh AB, Putney JW Jr. Store-operated calcium channels. *Physiol Rev* 2005; 85(2): 757–810.
11. Kaderjakova Z, Lajdova I, Horvathova M et al. Effects of chronic kidney disease on blood cells membrane properties. *Bioelectrochem* 2012; 87: 226–229. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bioelectrochem.2012.02.006>>.
12. Lajdova I, Oksa A, Chorvat D Jr et al. Purinergic P2X7 receptors participate in disturbed intracellular calcium homeostasis in peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic kidney disease. *Kidney Blood Pres Res* 2012; 35(1): 48–57. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1159/000330349>>.
13. Lajdova I, Spustova V, Oksa 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(11): 3376–3381. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfp292>>.
14. Polak-Jonkisz D, Purzyc L, Laszki-Szczachor K et al. The endogenous modulators of Ca²⁺-Mg²⁺-dependent ATPase in children with chronic kidney disease (CKD). *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25(2): 438–444. <<http://dx.doi.org/HYPERLINK> „<http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfp436>“>10.1093/ndt/gfp436>.
15. Supnet C, Bezprozvanny I. The dysregulation of intracellular calcium in Alzheimer disease. *Cell Calcium* 2010; 47: 183–189. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jceca.2009.12.014>>.
16. Wehrens XH, Lehnart SE, Marks AR. Intracellular calcium release and cardiac disease. *Annu Rev Physiol* 2005; 67: 69–98.
17. Lajdova I, Spustova V, Oksa A et al. The impact of vitamin D3 supplementation on mechanisms of cell calcium signaling in chronic kidney disease. *Bio Med Res Int* 2015; 2015: 807673. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1155/2015/807673>>.
18. Partiseti M, Le Deist 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(51): 32327–32335.
19. Feske S, Picard C, Fischer A. Immunodeficiency due to mutations in ORAI1 and STIM1. *Clin Immunol* 2010; 135(2): 169–182. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jclim.2010.01.011>>.
20. Mattson MP, Chan SL. Neuronal and glial calcium signaling in Alzheimer's disease. *Cell Calcium* 2003; 34(4–5): 385–397.
21. Somlo S, Ehrlich B. Human disease: calcium signaling in polycystic kidney disease. *Curr Biol* 2011; 11(9): R356–360.

22. Luo X, Hojaye B, Jiang N et al. STIM1-dependent store-operated Ca²⁺ entry is required for pathological cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 2012; 52(1): 136–147. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jmcc.2011.11.003>>.
23. McCarl CA, Picard C, Khalil S et al. ORAI1 deficiency and lack of store-operated Ca²⁺ entry cause immunodeficiency, myopathy, and ectodermal dysplasia. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124(6): 1311–1318. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2009.10.007>>.
24. Kotturi MF, Carlow DA, Lee JC et al. Identification and functional characterization of voltage-dependent calcium channels in T lymphocytes. *J Biol Chem* 2003; 278(47): 46949–46960.
25. Stokes L, Gordon J, Grafton G. Non-voltage-gated L-type Ca²⁺ channels in human T cells. Pharmacology and molecular characterization of the major α pore-forming and auxiliary β -subunits. *J Biol Chem* 2004; 279(19): 19566–19573.
26. Badou A, Jha MK, Matza D et al. Emerging roles of L-type voltage-gated and other calcium channels in T lymphocytes. *Front Immunol* 2013; 4: 243. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1155/2015/807673>>.
27. Lajdová I, Chorvat D Jr, Chorvatová A. Rapid effects of 1 α ,25(OH)₂D₃ in resting human peripheral blood mononuclear cells. *Eur J Pharmacol* 2008; 586(1–3): 14–23. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.02.004>>.
28. Ralevic V, Burnstock G. Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol Rev* 1998; 50(3): 413–492.
29. Gu BJ, Zhang WY, Bendall LJ et al. Expression of P2X(7) purinoceptors on human lymphocytes and monocytes: evidence for non-functional P2X(7) receptors. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 279(4): C1189–C1197.
30. Howarth AR, Conway BR, Bailey MA. Vascular and inflammatory actions of P2X receptors in renal injury. *Auton Neurosci* 2015; 191: 135–140. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.autneu.2015.05.001>>.
31. North RA. Molecular physiology of P2X receptors. *Physiol Rev* 2002; 82(4): 1013–1067.
32. Vonend O, Turner CM, Chan ChM et al. Glomerular expression of ATP-sensitive P2X7 receptor on diabetic and hypertensive rat models. *Kidney Int* 2004; 66(1): 157–166.
33. Jorgensen NR, Henriksen Z, Sorensen OH et al. Intracellular calcium signaling occurs between human osteoblasts and osteoclasts and requires activation of osteoclast P2X7 receptors. *J Biol Chem* 2002; 277(9): 7574–7580.
34. Di Virgilio F, Sollini A. P2 receptors: new potential players in atherosclerosis. *Br J Pharm* 2002; 135(4): 831–842.
35. Birch RE, Schwiebert EM, Peppiatt-Wildman CM et al. Emerging key roles for P2X receptors in the kidney. *Front Physiol* 2013; 4: 262. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2013.00262>>.
36. Ferreira LGB, Reis RAM, Alves LA et al. Intracellular signaling pathways integrating the pore associated with P2X7R receptor with other large pores. In: Kanez FS. *Patch Clamp Technique* 2012: 37–54. Tech Open Access Publishing, Vienna, Austria. ISBN 978–953–51–0406–3. Dostupné z DOI: <http://cdn.intechopen.com/pdfs/33627/InTech-Intracellular_signaling_pathways_integrating_the_pore_associated_with_p2x7r_receptor_with_other_large_pores.pdf>.
37. Franco-Martinez S, Nino-Moreno P, Bernal-Silva S et al. Expression and function of the purinergic receptor P2X7 in patients with pulmonary tuberculosis. *Clin Exp Immunol* 2006; 146(2): 253–261.
38. Garcia-Hernandez MH, Portales-Cervantes L, Cortez-Espinosa N et al. Expression and function of P2X7 receptor and CD39/Entpd1 in patients with type 2 diabetes and their association with biochemical parameters. *Cell Immunol* 2011; 269(2): 135–143. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cellimm.2011.03.022>>.
39. Madec S, Rossi C, Chiarugi M et al. Adipocyte P2X7 receptors expression: a role in modulating inflammatory response in subjects with metabolic syndrome? *Atherosclerosis* 2011; 219(2): 552–558. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2011.09.012>>.
40. Morvova M Jr, Lajdová I, Spustova V et al. The effect of vitamin D₃ supplementation on intracellular calcium and plasma membrane calcium ATPase activity in early stages of chronic kidney disease. *Physiol Res* 2014; 63(Suppl 4): S593–S599.
41. Gaftor 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(3): 222–231.
42. Holton ML, Wang W, Emerson M et al. Plasma membrane calcium ATPase proteins as novel regulators of signal transduction pathways. *World J Biol Chem* 2010; 1(6): 201–208. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.4331/wjbc.v1.i6.201>>.
43. Bautista DM, Lewis RS. Modulation of plasma membrane calcium-ATPase activity by local calcium microdomains near CRAC channels in human T cells. *J Physiol* 2004; 556(Pt 3): 805–817.
44. Glendenning P, Ratajczak T, Dick IM et al. Calcitriol upregulates expression and activity of the 1b isoform of the plasma membrane calcium pump in immortalized distal kidney tubular cells. *Arch Biochem Biophys* 2000; 380(1): 126–132.
45. Glendenning P, Ratajczak T, Dick IM et al. Regulation of the 1b isoform of the plasma membrane calcium pump by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in rat osteoblast-like cells. *J Bone Miner Res* 2001; 16(3): 525–534.
46. Kip SN, Strehler EE. Vitamin D₃ up regulates plasma membrane Ca²⁺-ATPase expression and potentiates apico-basal Ca²⁺ flux in MDCK cells. *Am J Physiol-Renal Physiol* 2004; 286(2): F363–F369.
47. Lajdová I, Spustova V. Calcium Transport across Plasma Membrane in Early Stages of Chronic Kidney Disease – Impact of Vitamin D₃ Supplementation. *J Kidney* 2015; 1: 108. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.4172/2472-1220.1000108>>.

RNDr. Ingrid Lajdová, PhD.

✉ ingrid.lajdova@szu.sk

Ústav farmakológie, klinickej a experimentálnej farmakológie
LF SZU, Bratislava, Slovenská republika

www.szu.sk

Doručeno do redakce 22. 8. 2016

Přijato po recenzii 3. 10. 2016