

Kalsiyum İyonu ve Pompalarının Kas Kasılma/Gevşemesindeki Kritik İşlevleri

Ahmet Talha İnal¹

Z. Işık Solak Görmüş²

Raviye Özen Koca³

Hatice Solak⁴

Özet

Organizma, uyarılabilir dokular olan kasların kasılıp gevşemesi ile yaşamını sürdürülebilir. Kalsiyum (Ca^{2+}) iyonu kaslarda hem kasılma hem de gevşemede kilit rol oynar. Kas hücrelerinin kasılıp gevşemesi Ca^{2+} iyonunun hücre içi konsantrasyonunun düzenlenmesi ile sağlanabilir. Ca^{2+} iyon konsantrasyonu düzenlenmesi elektrokimyasal gradiyent ve membran iyon pompaları vasıtasıyla gerçekleştirilir. Diyastolik ve sistolik fonksiyon bozuklukları kalp kası kasılma ve gevşeme sorunlarını temsil eden yaygın bir durumdur. Bu nedenle, başta kalp kası ve tüm kaslarda kasılma ve gevşeme mekanizmaları ile bu mekanizmalarda Ca^{2+} iyonu rollerinin tüm açıklığıyla bilinmesi önemlidir. Bu bölümde, vücut homeostazisinin sağlanmasında önemli role sahip olan Ca^{2+} iyon ve pompalarının kas kasılma ve gevşemesi üzerindeki kilit rolleri ve Ca^{2+} iyon konsantrasyonlarının düzenlenmesi tartışılacaktır.

Giriş

Organizmada soluk alıp verme, kan dolaşımı varlığı ve damarlarda dolaşan kanla dokulara yeterli oksijen ve besinlerin taşınabilmesiyle yaşamın

- 1 Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Konya, <http://orcid.org/0000-0002-8730-9128>, e-mail: inalsamsun@gmail.com
- 2 Doç. Dr., Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Konya, <http://orcid.org/0000-0001-6762-6225>, e-mail: igormus@gmail.com
- 3 Arş. Gör. Dr., Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Konya, <http://orcid.org/0000-0001-6295-5548>, e-mail: raviyeozen@gmail.com
- 4 Dr. Öğr. Üyesi, Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kütahya, <http://orcid.org/0000-0002-3554-3051>, E mail: hhaticesolak@gmail.com

varlığından bahsedilebilir. Yaşamsal faaliyetlerin sürdürülebilmesi ‘kas hücresi’ olarak ifade edilen hücrelerden oluşan iskelet kası, düz kas ve kalp kası dokularının kendi görev alanları çerçevesinde gerektiğinde ‘kasılma’ ve ‘gevşeme’ eylemleri ile mümkündür. Çünkü kas kasılması demek yaşam için gerekli güç enerjisinin açığa çıkması demektir. Bir sonraki kasılma için gerekli hazırlık ise gevşemeyle mümkün olur. İskelet kasları, yürüme, oturma, koşma, ayakta durma gibi fiziksel aktivite, egzersiz veya egzersiz aktivitesinin bir plan çerçevesinde yapılan hali ‘antrenman’ olarak ifade edilen vücut hareketlerini sağlar. Düz kaslar, vasküler yapılar, gastrointestinal sistem, genito-üriner sistem ve solunum sistemi organ duvarları gibi dokularda bulunurlar. Düz kaslar, yaşamın sürdürülmesi ve fiziksel aktivitenin sağlanmasında gerek dolaşım ve solunumun sağlanması için vasküler veya bronşiyal çap değişimi, gerekse besinlerin sindirilmesi veya atıkların atılmasında bağırsak veya üriner traktus yapılarında şekil değişikliği hareketi kabiliyetlerini sağlarlar. Kalp kası ise, tüm egzersiz ve hareket faaliyetlerinde kan dolaşımının sağlanması ve sürdürülmesinde işlev gören ‘kalp pompası’ oluşturur. Kalbin kasılması sistol, gevşemesi diyastol olarak adlandırılmaktadır. Kalp, kendisine periferden gelen kanla diyastolde dolar ve sistol ile fizyolojik ölçülerde güçlü bir şekilde kasılarak kendisine gelen kanın tamamını periferde pompalar. Kalpte sağ atriyum ve sağ ventrikülden oluşan sağ kalp pompası kanı akciğerlere pompalarken, sol atriyum ve sol ventrikülden oluşan sol kalp pompası, kanı genel sistemik dolaşıma pompalar. Kalp, tüm vücudun oksijen ve besin ihtiyacını pompa gücüyle sürdürdüğü dolaşım vasıtasıyla sağlamaktadır. Dolayısıyla, kalp kasılıp gevşeme işlevleri sayesinde kendisine periferden gelen kanı alabilmekte ve yeniden periferde pompalayabilmektedir. Kas yapısında bir pompadan ibaret olan kalbin esas işlevi, dolaşımı tek yönlü yürüterek kanın tüm vücuda ivedilikle ulaşmasını sağlayabilmektir. Her üç kas grubunun da hem kasılma hem de gevşeme eylemlerinde Ca^{2+} iyonu varlığı ve konsantrasyonunun hassas düzenlenmesi ile enerji gerekliliği tartışılmaz gerçektir.

Buradan hareketle bu bölümde, Ca^{2+} iyonu ve membran pompalarının kas kasılma ve gevşemesi üzerindeki işlevleri ile kasılma ve gevşeme esnasında vücut bileşenlerinde Ca^{2+} iyon konsantrasyonunun düzenlenmesi tartışılacaktır.

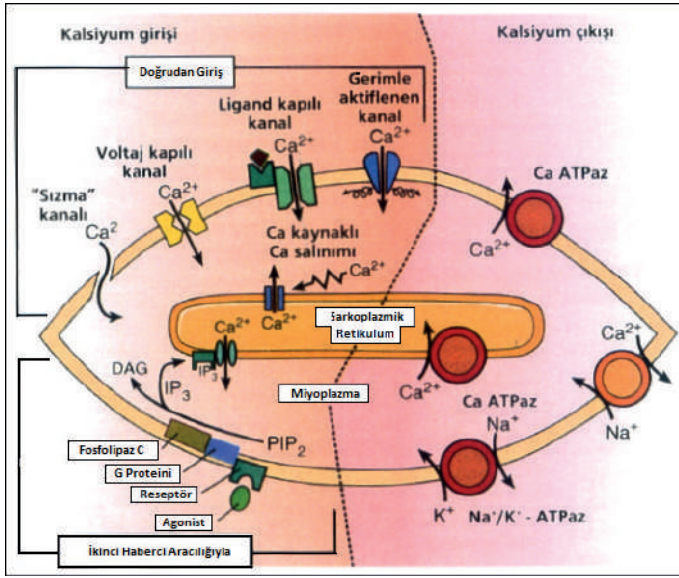
Kas Kasılmasının Genel Mekanizması

Kas dokuları, düz kas, iskelet ve kalp kası olmak üzere 3 çeşit kas hücresi grubundan meydana gelir. Tüm kas hücrelerinde kasılma eyleminin başlayabilmesi için, öncelikle hücre içi kalsiyum (Ca^{2+}) iyon konsantrasyonunda artışa ihtiyaç vardır. İskelet kası kasılması için hücre içi

Ca^{2+} depoları genellikle tek başına yeterliyken, kalp kası ve düz kas kasılması için hem hücre içi hem de hücre dışından gelecek Ca^{2+} iyonlarına ihtiyaç vardır. Yani, kalp kası ve düz kas grubunun kasılma gücü, hücre dışı sıvının Ca^{2+} konsantrasyonundan belirgin olarak etkilenir (1). Kasılma ve Ca^{2+} iyon akışını tetikleyecek olan depolarizasyon dalgası, iskelet ve kalp kasında T tübüleri aracılığıyla hücre içine yayılırken (2), düz kas depolarizasyon dalgası yayılması T tübülün karşılığı kaveol adlı membran çukurcukları vasıtasıyla gerçekleşir (3).

Kasılma için gerekli olan Ca^{2+} iyon serbestlenmesi kas tiplerinde farklılıklar gösterir. İskelet kasında görülen, T tübülerinde konumlanmış dihidropiridin reseptörleri ile sarkoplazmik retikulum (SR) zarında bulunan ve uyarıldığında SR Ca^{2+} iyon içeriğinin sitozole akışına izin veren ryanodin reseptörleri (RyR) arasındaki doğrudan etkileşim, kalp kası hücrelerinde görülmez. Bu olay kalp kası aksiyon potansiyelinin platolu oluşundan kaynaklanmaktadır. Kalp kası aksiyon potansiyeli platosu, dihidropiridin reseptörleri (L-tipi Ca^{2+} kanalları da denir) vasıtasıyla Ca^{2+} iyonunun hücre dışı sıvıdan hücre içine girişi ile meydana gelmektedir. Hücre dışından gelen bu Ca^{2+} tek başına kalp kası kasılmasını başlatmaya yeterli değildir. Kasılma için, SR tarafından Ca^{2+} serbestleme kanalları (RyR) aracılığıyla daha fazla Ca^{2+} iyonunun salınımına ihtiyaç vardır (4).

Ca^{2+} iyonu ile uyarılan bu çift yönlü Ca^{2+} akış mekanizması düz kas kasılması için de geçerlidir. Ancak her organ fiziksel boyut ve organizasyonları, farklı tipte uyarılara verdiği cevaplar, inervasyon özellikleri ve işlevleri gibi nedenlerle diğer organlardan ayırt edilebilir nitelikte düz kas yapısı içerdiğinden, Ca^{2+} artışını birkaç farklı şekilde sağlayabilmektedir (3). Depolarizasyon, düz kas sarkolemmasındaki voltaj kapılı Ca^{2+} iyon kanallarını açar ve Ca^{2+} hücre içine akar. Böylece sitozolik Ca^{2+} iyon konsantrasyonu artar, bu da SR'den ilave Ca^{2+} salınımına neden olur. Ca^{2+} artışına 2 mekanizma daha katkıda bulunabilir. Sarkolemmada konumlu ligant kapılı Ca^{2+} kanalları ve SR zarında bulunan inositol trifosfat (IP3) kapılı Ca^{2+} salınım kanalları, çeşitli hormonlar ve nörotransmitterler aracılığıyla açılıp Ca^{2+} seviyelerini arttırabilir (5) (Şekil 1).



Şekil 1: Düz kas hücresinde başlıca Ca²⁺ giriş-çıkış yolları (6).

Hücre içerisinde konsantrasyonu artan Ca²⁺, iskelet ve kalp kasında troponin C ile düz kasta ise onun yerini almış olan kalmodulin ile birleşir. Ca²⁺-kalmodulin kompleksi miyozin hafif zincir kinaza bağlanıp onun inhibisyonunu ortadan kaldırırken, Ca²⁺ iyonunun troponin C'ye bağlanması, tropomiyozinin aktin-miyozin üzerindeki inhibitör etkisini sonlandırır. Böylelikle aktin-miyozin eşleşmesinin önü açılmış olur. Devamında, kayan filamentler modeline göre kasılma gerçekleşir (2). Buna göre; aktin-miyozin arasında çapraz köprüler kurulup ayrıldığında kalın ve ince filamentler birbiri üzerinden kayarak hareket ederler ve bunun neden olduğu çapraz köprü döngüsü sonucunda kas lifinde gerim meydana gelir (5).

Kas Gevşemesi Sırasında Kalsiyumun Sitozolden Birincil Aktif Taşınması

Metabolik enerjinin doğrudan kullanımı ile taşımının gerçekleştirilmesi birincil aktif taşıma mekanizması olarak tanımlanır. Metabolik enerjinin kaynağı mitokondrilerde sentezlenen ATP'dir. Birincil aktif taşımada konsantrasyon ya da elektriksel potansiyel gradientine karşı iyonları taşımak için doğrudan metabolik enerji kullanan integral membran proteinlerine iyon pompaları adı verilir. Çeşitli iyon pompaları taşımayı gerçekleştirmek için ATP'yi adenosin difosfata (ADP) hidrolize eder ve üçüncü fosfat bağında depolanmış olan enerjiyi kullanır. Bu özelliklerinden dolayı iyon pompaları ATPaz olarak da adlandırılır (6).

Ca^{2+} iyonları normal olarak vücuttaki tüm hücrelerin hücre içi sıvısında çok düşük konsantrasyonda tutulurlar, hücre içi konsantrasyonu hücre dışı sıvıdakinden 10.000 kez daha azdır. Bu, esas olarak iki primer aktif kalsiyum taşıma pompası ile gerçekleştirilir. Bunlardan biri, hücre zarındadır ve kalsiyumu hücreden dışarıya pompalar. Diğeri, kalsiyum iyonlarını kas hücresinde SR ve tüm diğer hücrelerde mitokondriler gibi bir veya birden fazla hücre içi veziküller organelin içine pompalar. Bu örneklerin her birinde, taşıyıcı proteinler zarın bir yüzünden diğer yüzüne uzanır ve aynı zamanda bu taşıyıcı proteinler sodyum taşıyıcı proteini gibi ATP'yi parçalama yeteneği olan bir ATPaz'dır. Bu proteinin farkı sodyum yerine kalsiyum bağlayan ileri derecede özgül bir bağlanma bölgesine sahip olmasıdır (7).

Plazma Membran Ca^{2+} -ATPaz (PMCA)

Plazma membranı kalsiyum ATPaz pompası, P-tipi ATPaz ailesinin bir üyesidir (8). Elektrokimyasal gradiyentin tersine hücre içinden dışına kalsiyum atılımını sağlayan, yüksek afiniteli, düşük kapasiteli bir kalsiyum pompasıdır. Ca^{2+} hücre dışına atılırken 2 hidrojen (H^+) ile yer değiştirir ve bu durum Na^+/H^+ değiş tokuşu gibi transport proteinleri ile kompanse edilir. PMCA pompasının bilinen spesifik bir inhibitörü yoktur. Lantanidler ve vanadatlar gibi non-spesifik P-tipi ATPaz blokörleri tarafından inhibe edilir (9). Karboksil terminaline kalmodulin bağlanması otoinhibisyonu ortadan kaldırarak Ca^{2+} afinitesini ve transportunu artırır (10). Ayrıca, Plazma membranı kalsiyum ATPaz pompasının protein kinaz A, protein kinaz G ve Ca^{2+} -kalmodulin bağımlı protein kinaz II (CaMKII) tarafından fosforilenmesi otoinhibisyonu azaltarak transportu kolaylaştırır (11).

Sarkoendoplazmik Retikulum Ca^{2+} -ATPaz (SERCA)

Hücreler tarafından kullanılan Ca^{2+} iyonunun büyük bir kısmı organel membranında bulunan taşıyıcılar ile kontrol edilmektedir (12, 13). SR membranında bulunan sarkoendoplazmik retikulum Ca^{2+} -ATPaz (SERCA), Ca^{2+} iyonlarını sitozolden SR'ye taşıyan bir pompadır. SERCA pompası, hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda tanımlanmış ve mayadan memeli sistemlerine kadar tüm canlı organizmalarda bulunan bir transmembran proteinidir (14). SERCA pompalarının iki işlevi vardır: sitozolik Ca^{2+} iyon konsantrasyonunu düşürerek kas gevşemesine neden olmak ve aynı zamanda kas kasılması için gerekli olan SR Ca^{2+} iyon deposunu geri kazandırmak (15). Ayrıca, hücre büyümesi ve farklılaşması da dâhil olmak üzere birçok hücresel işlevde rol oynarlar (16).

SERCA'lar, Plazma membranı kalsiyum ATPaz'lar ile aynı etki mekanizması ve membran yapısına sahiptirler (12, 13). Plazma membranı

kalsiyum ATPaz, Na⁺/K⁺-ATPaz, H⁺-ATPaz ve K⁺-ATPaz'ın da içinde bulunduğu P-tipi ATPaz ailesinin bir parçasıdır (17). Bir dimer olan Na⁺/K⁺-ATPaz'ın aksine, SERCA pompası tek bir polipeptittir ve hem endoplazmik retikulum hem de SR membranında konuşludur. P-tipi ATPaz'lar, ATP'nin hidrolizini iyonların biyolojik bir zar boyunca hareketine bağlar. SERCA pompası, Ca²⁺ iyonunu membran boyunca taşımak için ATP hidrolizinden elde edilen enerjii kullanır (14). Bir ATP molekülünün hidrolizi sonucunda iki Ca²⁺iyonunun sitoplâzmadan SR lümenine elektriksel taşınmayı katalize edilir. Ca²⁺ transportu tersinirdir. Uygun koşullar altında SR lümeninden salıverilen iki Ca²⁺iyonu için bir ATP molekülü meydana gelmektedir (18).

SERCA pompası, yüksek oranda korunmuş ancak farklı kromozomlarda lokalize olan SERCA1, 2 ve 3 olmak üzere üç gen tarafından kodlanır (14). Ancak, SERCA izoformları ve *splice* varyantlarının işlevleri farklıdır (19). SERCA izoform çeşitliliği, esas olarak karboksil (-COOH) terminalinde meydana gelen transkriptlerin alternatif bir şekilde eklenmesiyle çarpıcı biçimde arttırılmaktadır (14). Ekspresyonları dokuya özellikli olmakla beraber, yetişkinlerde ve gelişim süresince hormonlar, kontraktıl aktivite ve inervasyon ile ayrımsal olarak kontrol altındadır (20).

SERCA1 hızlı kasılan iskelet kasında eksprese edilir ve SERCA1a (994 aa) yetişkinlerdeki, SERCA1b (1011 aa) ise yeni doğandaki izoformdur (21). SERCA2 tarafından kodlanan SERCA2a (997 aa) esas olarak kalp ve yavaş kasılan iskelet kasında bulunurken (21), SERCA2b (1042 aa) kas ve kas dışı hücreler de dâhil olmak üzere tüm dokularda düşük seviyelerde eksprese edilen izoformdur (22).

SERCA2b SERCA2a'ya göre, Ca²⁺ iyonuna 2 kat daha fazla afinité gösterirken, 2 kat daha az enzim aktivitesi göstermektedir. SERCA 2, SR'nin Ca²⁺ iyon konsantrasyonunun düzenlenmesinde önemli yere sahiptir (22). SERCA2b bir housekeeping genidir ve düz kasta eksprese edilen major izoformdur (23). Yakın zamanda, kalp kasında üçüncü bir izoform olan SERCA2c (999 aa) de rapor edilmiştir (24). SERCA3 ise epitel ve endotel hücre tiplerinde bulunmaktadır (25). İzoformları birçok kas ve kas olmayan hücrede geniş bir dağılım göstermektedir (26). Ancak kasta minör bir form gibi görünmektedir (27, 28).

İnsanlarda, SERCA3'ün, birden fazla doku ve hücre tipinde ifade edilen mRNA düzeyinde 3a–3f (yaklaşık 999–1052 aa) olmak üzere altı izoformu kodladığı bilinmektedir (29). Epitel ve endotel hücrelerinin yanı sıra SERCA3 izoformları, hematopoietik hücre dizilerinde, trombositlerde ve fibroblastlarda da yüksek seviyelerde eksprese edilir (28,29).

SERCA izoformlarının dikkate değer bir özelliği, birincil yapılarının yüksek oranda korunmuş olmasıdır. SERCA2a proteini, SERCA1a proteini ile yaklaşık %84 özdeşdir ve SERCA3 proteini, SERCA1 veya SERCA2 molekülleri ile %75 özdeşdir. Bir başka ilginç özellik, tüm SERCA izoformlarının, Thapsia Targanica bitkisinden türetilen Thapsigarjin tarafından inhibe edilmesidir (30). Bununla birlikte, Thapsigarjin'in Na^+/K^+ ATPaz veya diğer plazma membranı ATPaz'ları üzerinde etkisi görülmemiştir (14).

Hücre içi Ca^{2+} iyon konsantrasyonunun düşürülmesi sırasında, Ca^{2+} iyonun SR'in içerisine yeniden sokulması, hücre zarı vasıtasıyla hücre dışına çıkarılmasından önde gelmektedir. Ca^{2+} iyonunun hücre içerisinden başka yerlere taşınma işlemleri arasındaki bağlantı canlıdan canlıya farklı olabilmektedir. Hücre içi Ca^{2+} iyonu, insanoglunda %70, kemirgen sıçan türlerinde ise %90 oranında SR eliyle azaltılır. Bu durumda SERCA işlevleri büyük oranda SR'deki Ca^{2+} iyon konsantrasyonundan etkilenir (31).

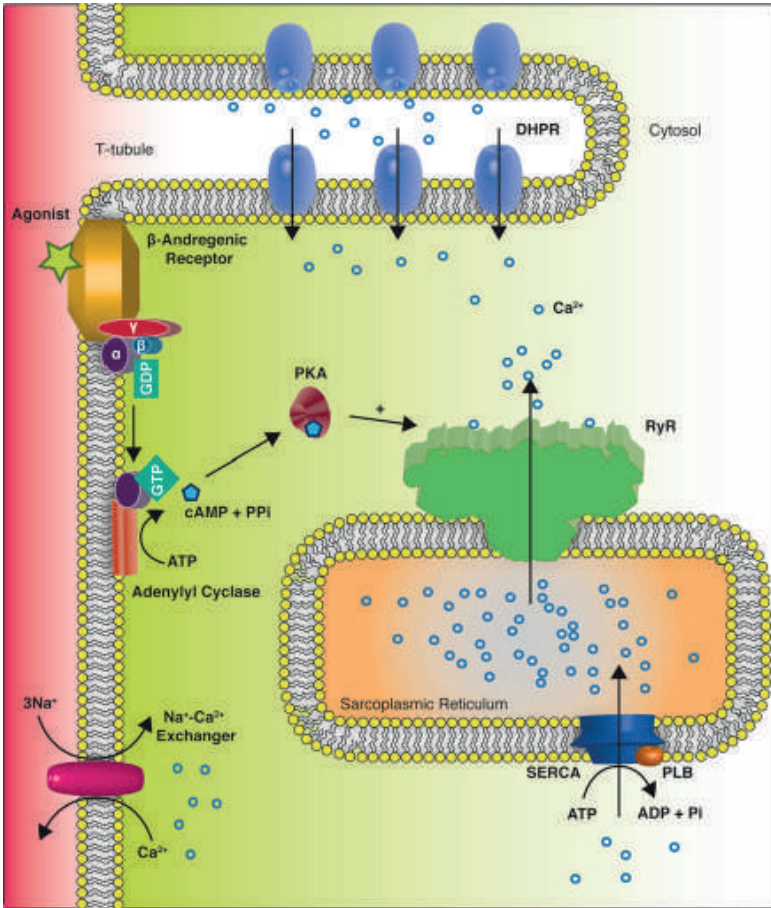
SERCA tarafından SR içerisine alınan Ca^{2+} , düşük afiniteli Ca^{2+} bağlayan proteinlerle (kalsekstrin, kalretikülin gibi) kompleks halinde depolanmaktadır (32). Bunun yanında SERCA inhibitörleri olan siklopiazonik asit ve diterbütil hidrokinon uygulanması da Ca^{2+} iyonunun aktif olarak SR içine pompalanmasını inhibe eder (33).

SERCA2a ve Fosfolambanın Aktivite Düzeni Kardiyak Fonksiyon İçin Kritiktir

Kalp kası hücrelerinde uyarılma-kasılma bağlantısını büyük oranda hücre içi Ca^{2+} taşıma mekanizmaları belirler. 0,3 saniyelik ventriküler kasılmayı kapsayan sistol ile 0,5 saniyelik ventriküler gevşemeyi kapsayan diyastolden oluşan 0,8 saniyelik bir tur kasılıp gevşeme sürecine 'kalp döngüsü' adı verilmektedir.

Diyastol süreci, ventriküllerin kan ile yeterli dolumu ve subendokardiyal alanın kanlanması açısından oldukça önemlidir. Sistolü takip eden gevşeme safhasının sağlıklı bir şekilde gerçekleşebilmesi için sitozoldeki Ca^{2+} iyonu konsantrasyonunun gecikmeden azaltılması gerekmektedir (34). Sitozolik Ca^{2+} konsantrasyonunun azaltılması Ca^{2+} 'un hücre içerisinden taşınmasıyla mümkün olacaktır. Ca^{2+} iyonunun sitozolden uzaklaştırılması, hücre dışı sıvıya ve eş zamanlı olarak SR içine yeniden taşınmasıyla gerçekleşir (31). Kalpte SR tarafından Ca^{2+} iyonunun geri alınımı SERCA2a'ya bağlı olduğundan bu izoformun normal kardiyak gelişim ve kasılma-gevşeme döngüsü için kritik bir öneme sahip olduğu açıktır (14).

SERCA2a'nın Ca^{2+} üzerindeki etkisi doğrudan ve dolaylı iki etken ile düzenlenmektedir. Dolaylı etki, SERCA2a pompasıyla bitişik ve genelde defosforile yapıda bulunan fosfolamban ile sağlanmaktadır. Fosfolamban'ın bu yapısı pompanın Ca^{2+} iyonuna olan ilgisini engellemektedir (Şekil 2). Fosfolamban, β -mimetik uyarı ile cAMP bağımlı protein kinazın etkisiyle fosforile edilir. Böylece, inhibe haldeki SERCA2a'nın aktive olması sağlanarak pompanın Ca^{2+} iyonuna olan afinitesi arttırılmış olur (35). İnhibisyonu kaldırılan SERCA2a, sitozoldeki Ca^{2+} iyonlarını SR'ye pompalamakta ve sonuçta SR'daki Ca^{2+} iyon miktarı yükseltilir. Doğrudan etkili etkenin adı ise, CaMKIP'dir. CaMKII, SERCA2a'da bulunan serin 38'in fosforilasyonunu sağlayarak SERCA2a'nın aktifleşmesine neden olur. Sonuçta, Ca^{2+} iyonunun SR'a yeniden taşınması artar (25).



Şekil 2: β -adrenerjik uyarı ve cAMP bağımlı protein kinazın etkisiyle fosfolamban'ın (PLB) fosforilasyonu sağlanarak, SERCA üzerindeki inhibisyonu kaldırılmakta ve pompanın kalsiyuma olan afinitesi arttırılmaktadır (35).

Fosfolamban, ventriküler kasılma ve SERCA2a üzerinde ana regülatör etkiye sahip proteindir. Fosfolamban (52 aa), SR zarında bulunan bir reseptör proteindir ve başta kalp kası olmak üzere, vasküler endotel, düz kas ve yavaş kontrakte iskelet kaslarında yerleşiktir. Fosfolamban fosforillenmesinde serin 16, treonin ve protein kinazlar rol almaktadır (36).

SERCA2a'da bulunan sSerinerin 16'nın β -mimetik uyarıyla fosforile edilmesi ventriküler kasılmayı artırıcı etkiye sahiptir. Bu olay, fosfolamban işlevlerinin düzenlenmesinde kilit role sahiptir (37).

Fosfolamban'ın genetik kodu çıkarılmış SR'li kemirgenlerle yapılan bir çalışmada SERCA2a'nın Ca^{2+} afinitesinde ve SR içindeki Ca^{2+} iyon miktarında yükseliş olduğu gösterilmiştir. Dahası, L-tipi Ca^{2+} kanalları vasıtasıyla sitozole Ca^{2+} geçişinin belirgin olarak yükseldiği de tespit edilmiştir. Sonuç olarak, kalbin kasılma gücü ve hızıyla birlikte performansının da arttığı görülmektedir. Bu verilerden, Fosfolamban'ın β -mimetik uyarıların neden olduğu ventriküler kasılmada ana düzenleyici role sahip olduğu söylenebilir (38).

SR membranlarında daha çok Fosfolamban taşıyan transgenik hayvanlara ait kalp kası hücrelerinde yapısal olarak bir anormallik görülmediği, fakat bu hayvanlarda SERCA2a'nın Ca^{2+} a afinitesinin büyük oranda düştüğü gösterilmiştir. Kalp kası hücrelerinin kısalıp uzayabilme hızlarının düşük gösterildiği araştırma sonuçları, Fosfolamban'ın yetersiz olduğu çalışmaların sonuçlarıyla zıt kutuplardadır (39).

SERCA Pompası-Riyanodin Reseptörü İlişki

SERCA2a'nın fonksiyonu, sitozolden Ca^{2+} uzaklaştırılma gücü ve SR'daki Ca^{2+} iyon miktarını etkilemektedir (40). Sitozolik Ca^{2+} miktarı da SERCA2a işlevlerinde etkilidir (41). Kalp atım frekansı arttığında, diyastolde kalp kası hücre içerisinde Ca^{2+} miktarı artar. Artan Ca^{2+} miktarı ile CaMKII, Fosfolamban'ın fosforilasyonunu sağlar ve böylece SERCA2a üzerindeki inhibe edici etkisini ortadan kaldırır. Sonuçta SERCA2a'nın fonksiyonu arttırılır (42). Bu mekanizma ile sempatik uyarı sırasında kalp kası hücrelerinin gevşeme hızı ve SR Ca^{2+} iyon içeriği artmaktadır (40).

Bunun yanında, RyR SR'daki Ca^{2+} iyon miktarından büyük oranda etkilenmektedir (43). Relaksasyon süresince, fazla SERCA2a aktivitesinden dolayı artan Ca^{2+} iyon konsantrasyonuyla, RyR fazla Ca^{2+} iyon içeriğinin sitozole sızmasına neden olur (44). Sızıntının artışıyla SR'den Ca^{2+} kaybı artar, fakat aynı zamanda SERCA2a üzerinden Ca^{2+} iyonunun geri alımı da sağlandığından Ca^{2+} iyon konsantrasyonu kısmen dengelemiş olur (45). SERCA pompası ve RyR arasındaki dengenin değişmesi kalp kası

hücresi gevşeme hızını etkileyecektir (46). SERCA aktivitesi azaldığında, dinlenim halindeki Ca^{2+} iyon miktarlarının yerine konması için yeterli vakit bulunmadığı takdirde sitozolden Ca^{2+} gönderilmesi yavaşlayacak ve diyastol esnasında sitozolik Ca^{2+} iyon miktarı artacaktır. Bunun sonucunda da kalp kası hücrelerinin gevşeme hızı azalacaktır (31).

Kas Gevşemesi Sırasında Sitozolden Kalsiyumun İkincil Aktif Taşınması

Hücreler, bir solütü kendi konsantrasyon gradiyentine karşı taşımak için başka bir solütün konsantrasyon gradiyentinde depolanan enerjiyi kullanarak birkaç taşıyıcı mekanizma geliştirmiştir. Memelilerde, bu mekanizmaların çoğunda Na^+ iyonundan faydalanılır ve Na^+ gradiyentinden elde edilen enerji başka bir önemli solütün “gradiyente zıt yönde” taşınmasını gerçekleştirmek için kullanılır. Na^+ gradiyenti, $Na^+/K^+-ATPaz$ faaliyetiyle korunduğundan, bu taşıma sistemlerinin işlevi $Na^+/K^+-ATPaz$ 'ın işlevine ihtiyaç duyar. Sonuç olarak bu sistemler, taşıma için doğrudan enerji kullanmamalarına rağmen, sistemlerin işlevi, $Na^+/K^+-ATPaz$ pompasının yeterli düzeyde metabolik enerji sağlanmasına bağlıdır (6).

Bu sistemler, ikincil aktif taşıma mekanizmaları olarak adlandırılır. Metabolik inhibitörler ya da farmakolojik blokörler ile $Na^+/K^+-ATPaz$ pompasının devre dışı bırakılması, Na^+ gradiyentinin zamanla eşitlenmesine ve sonuç olarak bu taşıma sistemlerinin durmasına neden olur. Pasif taşıyıcı aracılı sistemlere benzer şekilde, ikincil aktif taşınma sistemleri de integral zar proteinleridir. Bu sistemler taşıdıkları solüte karşı özgülüğe sahiptir, doyumluk kinetiği ve yarışmalı inhibisyon gösterirler. Ancak, pasif taşıyıcı aracılı sistemler ile iki açıdan aralarında farklılık vardır. Birincisi, ikincil aktif taşınma sistemleri kendi elektrokimyasal gradiyenti yönünde hareket ederek enerji temin eden sürücü iyonun yokluğunda çalışamazlar. İkincisi ise, bu sistemler ile solüt kendi konsantrasyon veya elektrokimyasal gradiyentin zıt yönünde taşınır (6).

Farklı ikincil aktif taşıma sistemleri fonksiyonel olarak iki grupta sınıflandırılabilir. Simport (birlikte taşınma) sistemlerinde taşınan solüt Na^+ iyonu ile aynı yöne taşınır. Antiport (değiş-tokuş) sistemlerinde ise Na^+ iyonu ve solüt ters yönlere doğru hareket eder (6). Na^+-Ca^{2+} zıt taşınması hemen hemen tüm hücre zarlarında görülür. Bu bazı hücrelerdeki Ca^{2+} iyonunun primer aktif taşınmasına ilavedir (7). Na^+-Ca^{2+} değişim sistemi, diğer Ca^{2+} pompaları gibi Ca^{2+} iyonunu hücre dışına çıkarır ve düşük sitozolik Ca^{2+} iyon konsantrasyonunun korunmasına yardım eder. Net bir yük hareketi olduğunda bu taşınma bir elektriksel sistemdir. Her döngüde 3 Na^+ iyonu hücre içine girer ve 1 Ca^{2+} iyonu dışarı atılır (6).

Sodyum-Kalsiyum Değişiricisi (Na^+ - Ca^{2+} Exchanger)

Ca^{2+} iyonunun hücre zarı vasıtasıyla hücre dışına çıkarılması önemli miktarda Na^+ - Ca^{2+} değişiricisi eliyle yapılmaktadır (47). Na^+ - Ca^{2+} değişiricisinin elektriksel olarak çalışmasından dolayı, büyük oranda zar potansiyelinden etkilenmektedir. Hiperpolarize haldeki istirahat zar potansiyeli Ca^{2+} iyonunun sitozolden çıkarılmasını artırırken, depolarize istirahat zar potansiyeli Ca^{2+} iyonunun çıkarılma hızının azalmasına veya çıkarılmanın durmasına bile sebep olmaktadır (31).

Na^+ - Ca^{2+} değişiricisinin işlevleri, Na^+ ve Ca^{2+} iyonlarının hücre içi miktarlarıyla da düzenlenir (48). Na^+ - Ca^{2+} değişiricisi ile sitozolden hücre dışına Ca^{2+} transfer edilirken, hücre içerisindeki Na^+ miktarında yükseliş oluşmaktadır (34). Buna karşılık hücre içi Na^+ miktarı ise, Na^+ / K^+ -ATPaz (baskın olarak $\alpha 2$ izoformu) tarafından Na^+ iyonunun aktif olarak hücre dışına pompalanmasıyla sürdürülmektedir (49). Na^+ - Ca^{2+} değişiricisi işlevi doğrudan ATP hidrolizinden etkilenmez, fakat Na^+ - Ca^{2+} değişiricisinin aktive olması Na^+ / K^+ -ATPaz tarafından himaye edildiği için Na^+ - Ca^{2+} değişiricisi ve Na^+ / K^+ -ATPaz, ATP tüketerek Ca^{2+} taşınmasını gerçekleştiren işlevsel bir ünite meydana getirmektedir (50). Mevcut ünitenin diyastol döneminde Ca^{2+} dengesindeki etkileri oldukça komplekstir. Na^+ - Ca^{2+} değişiricisinin ortaya koyduğu en üst düzey aktiviteyi, zardaki Na^+ - Ca^{2+} değişiricisi oranının yansıttığını var sayarsak, Na^+ - Ca^{2+} değişiricisi oranındaki yükseliş diyastolde sitozolik Ca^{2+} iyon miktarında düşmeye sebep olmaktadır (51). Aksine, bu transfer edici düzeyindeki düşüş Ca^{2+} iyon miktarında yükselişle de sonuçlanabilir (34). Fare ve domuz kalp kası hücresiyle yapılan bir çalışmada, Na^+ - Ca^{2+} değişiricisi blokajının hücre içi Ca^{2+} miktarını arttırdığı gösterilmiştir (52). Diyastolde, Na^+ - Ca^{2+} değişiricisinden doğrudan etkilenen hücre içi Ca^{2+} miktarının ayarlanması, yalnız Na^+ - Ca^{2+} değişiricisi sayısına değil, aynı zamanda zar potansiyeline ve sitozolik Na^+ iyon miktarına bağlıdır (53). Na^+ - Ca^{2+} değişiricisi miktarının değişmez olduğu anda, hücre içi Na^+ miktarının yükselişi hücre içi Ca^{2+} miktarının büyük oranda yükselmesine sebep olmaktadır. Zar potansiyelindeki yükselişin Na^+ miktarına oranla hücre içi Ca^{2+} miktarlarını oldukça fazla değiştirdiği gösterilmiştir (31).

Na^+ - Ca^{2+} değişiricisi faaliyetindeki bir düşüş, hücre içindeki Ca^{2+} iyonlarının çıkarılma hızının düşmesine sebep olacağından sitozolik Ca^{2+} seviyesi artacaktır (52). Ca^{2+} iyon miktarındaki yükseliş, SERCA'nın aktivite olmasına ve daha çok Ca^{2+} iyonunun SR'ye pompalanmasına neden olarak SR içerisinde Ca^{2+} konsantrasyonunu arttıracaktır (52). Aksine, hücre zarında bulunan Na^+ - Ca^{2+} değişiricisi miktarının artışına bağlı olarak, SERCA'nın

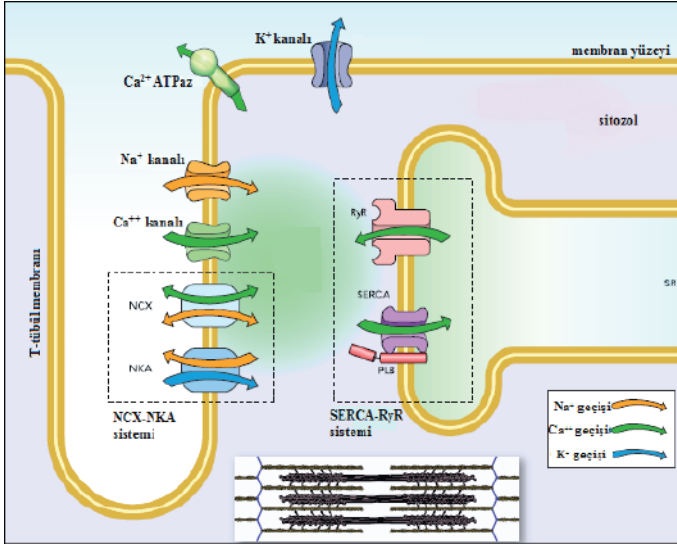
aktivitesindeki azalmayla birlikte SR Ca^{2+} düzeylerinin azaldığı, tavşan kalp kası hücrelerinde yapılmış bir araştırmada gösterilmiştir (51). Mevcut araştırmanın bulguları, azalmış hücre içi Ca^{2+} miktarları, SERCA2a işlevini ya doğrudan veya CaMKII aracılı Fosfolamban'ın fosforillenmesi vasıtasıyla düşürebilmektedir. Buradan, “ Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi ile Na^+/K^+ -ATPaz” ve “SERCA2a ile RyR” işleyiş yapılarının işlevsel bir şekilde birbirinden etkilendiği anlaşılmaktadır (31). Bu ilişkiler, kalp kası hücrelerinin diyastol süresince Ca^{2+} konsantrasyonunu devamlı olarak koruyabilmesi için hayati öneme sahiptir (34).

Kalsiyum'un Sarkoplazmik Retikuluma Geri Taşınması ve Hücre Dışına Çıkartılması

“ Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi ile Na^+/K^+ -ATPaz” ve “SERCA2a ile RyR” katılımıyla meydana gelmiş sistem, hücresel düzeyde Ca^{2+} miktarının düzenlenmesinde uyumlu olarak çalışmaktadır. Laboratuvar koşullarında istirahattaki hücrelerde sitozolik Ca^{2+} seviyelerinin sabit olduğu görülmüştür (54). Hücre istirahat durumundayken SR'den Ca^{2+} çıkmasıyla, Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi ve Na^+/K^+ -ATPaz'dan oluşmuş düzenleyici mekanizma, sitozoldeki serbest Ca^{2+} iyonlarını hücre içerisinden transfer edeceğinden dolayı, hücre içi Ca^{2+} miktarında kayda değer bir farklılık açığa çıkmayacaktır (34, 54). Ancak kalp kası hücreleri yüksek frekansta uyarıldığında, hücre içi Na^+ konsantrasyonu artacak (55) ve yeterli süre olmadığı için Na^+/K^+ -ATPaz ile hücre dışına yeterli düzeyde Na^+ taşınması sağlanamayacaktır (şekil 3) (34).

Hücre içi Na^+ konsantrasyonunun artışı Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi aktivitesini azaltır ve bundan dolayı sitozolik Ca^{2+} miktarı artar. Böyle olunca, Ca^{2+} iyonunun SR tarafından uzaklaştırılması gerekecektir. Ancak zamanla SR'de Ca^{2+} iyon içeriğinin yükselmesinden dolayı RyR'den çıkan Ca^{2+} düzeyi de yükselmektedir. RyR'deki Ca^{2+} sızıntısı, Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi aracılığı ile Ca^{2+} iyonunun çıkarılmasından oldukça yüksek hızla gerçekteştiğinden, diyastol döneminde sitozolik Ca^{2+} miktarı yükselmektedir (34). Bu durum, kalp kası hücresi uzunluğunda kılma ile sonuçlanır (56). Dahası, diyastolde Ca^{2+} miktarının yükselişi CaMKII'de aktivasyona neden olur. Aktive olmuş CaMKII tarafından fosforile edilen Fosfolamban sayesinde aktive olan SERCA2a etkisiyle sitozolik Ca^{2+} miktarı düşürülmeye çalışılmaktadır. Bu şekilde, kalp atım frekansının yükseldiği durumlarda SERCA2a relaksasyonu tetikleyici etkiye sahiptir (42). Ca^{2+} iyonunun SR eliyle geri alınımı ve hücre zarı tarafından uzaklaştırılması hücre içi Na^+ ve Ca^{2+} miktarlarındaki farklılaşmayla ilgili olmakla birlikte, bu olay sistol ve diyastol süresince oldukça farklılık göstermektedir (31).

Na^+ iyonunun Ca^{2+} dengesi üzerindeki muhtemel etkilerini göstermek için kardiyak glikozitlerin kullanımı örnek gösterilebilir. Dijitalerin önemli etkilerinden birisi Na^+/K^+ -ATPaz inhibisyonudur (49). Na^+/K^+ -ATPaz'ın inhibe edilmesi, doğrudan olmayan şekilde Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi aktivasyonunu etkilemekte ve sitozolden Ca^{2+} iyonunun uzaklaştırılmasında SERCA2a'nın üstünlüğünü arttırmaktadır (57). Kalp atım frekansı yükseldiği zamanlarda SERCA2a'nın aktive olmasında açığa çıkabilecek bir düşüş ile diyastolde hücre içi Ca^{2+} iyon konsantrasyonu artacaktır (46). SERCA2a aktive durumda olmadığından dolayı SERCA2a ile Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi arasındaki rekabet azalacak ve kalp kası hücresinden net Ca^{2+} iyonu çıkarılması Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi eliyle sağlanacaktır. Böylece, SR'deki Ca^{2+} iyon içeriği düşecektir. Literatürde, SERCA2a gen ifadesi alınmış farelerden izole edilen kalp kası hücrelerindeki SR Ca^{2+} iyon içeriğinin azalmış olduğu gösterir çalışmalar da bulunmaktadır (58).



Şekil 3: "SERCA- Fosfolamban (PLB) ve Ryanodin Reseptörü" ile "Na⁺-Ca²⁺ Değiştiricisi ve Na⁺-K⁺ ATPaz"ın yapısal organizasyonu (34).

Dikkat çekici bir başka durum ise, literatürde eksilmiş SR Ca^{2+} miktarına rağmen SR'den Ca^{2+} sızıntısının devam ettiğini bildiren yayınlara da rastlanmaktadır (59). Sızmanın, diyastolde artmış Ca^{2+} miktarının doğrudan RyR'yi etkilemesi veya CaMKIP' nin aktive edilmesiyle reseptörlerin hassaslaşmasından ötürü meydana geldiği ifade edilmektedir. Birtakım araştırmada, Gen delesyonu etkisiyle SR'deki SERCA2a miktarlarının azalmasının ardından, Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi sayısında artış olduğu da

bildirilmiştir (31, 46). Diğer bir araştırmada ise, 4 hafta sonra SERCA2a'nın aktive olmasında %67 oranında düşüşten dolayı Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi eliyle Ca^{2+} iyonunun sitozolden çıkarılmasının yaklaşık 2,5 kat oranında yükseldiği tespit edilmiştir (31). Bu olay, istirahatta Ca^{2+} miktarının devamlılığını sağlamada zorunlu bir durumdur (46).

Sonuç ve Öneriler

Ca^{2+} iyon konsantrasyonu hücre içi ortamda çok düşük seviyelerde tutulmak zorundadır. Özellikle, hayatın devamlılığı için lokomotif pompa olan kalbin doğru ritim ve yeterli güçte çalışabilmesi için hücre içi Ca^{2+} seviyenin dengede tutulması son derece önemli ve değerlidir. Dahası, hücre içinde Ca^{2+} iyonunun birikimi veya olması gereken sürede uzaklaştırılmayışı apoptozis mekanizmalarını da tetikleyebileceğinden dolayı, hücreyel organizasyon bu işlevi yerine getirebilmek için çeşitli alternatifler geliştirmiştir. Özellikle, kasların uygun şekilde kasılıp gevşeyebilmeleri için Plazma Membran Ca^{2+} -ATPaz, Sarkoendoplazmik Retikulum Ca^{2+} -ATPaz ve Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi mekanizmaları beraberce ve uyum içinde çalışmalıdır. Örneğin çeşitli patofizyolojik nedenlerden dolayı plazma membranı veya organel membranları üzerindeki kalsiyum taşıyıcı kanallar bloke olabilir ve beraberinde çeşitli kardiyovasküler sistem hastalıklarını, miyopatileri meydana getirebilir. Kaslar gecikmeden kasılıp gevşemesi gereken yapılardır. O halde, kasılıp gevşeme dengesinde kilit rol oynayan Ca^{2+} iyonu ve onun konsantrasyonunun düzenlenmesinde etkin olan Plazma Membran Ca^{2+} -ATPaz, Sarkoendoplazmik Retikulum Ca^{2+} -ATPaz ve Na^+ - Ca^{2+} değiştiricisi, RyR reseptör gibi pompa proteinlerin işleyiş, ilişki ve patolojileri yapılacak yeni çalışmalarla açığa kavuşturulursa, muhtemel kasılma ve gevşeme patolojilerinde doğru sonuca ulaşma kolaylaşacaktır.

Kaynaklar

1. Pınar L. Sinir ve Kas Fizyolojisi Temel Bilgileri. Kas Fizyolojisi. Akademisyen Kitabevi 2016;2: 45-92.
2. Ganong WF. Ganong Tıbbi Fizyoloji Cilt 1. Çev. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği. Uyarılabilir Doku: Kas. Barış Kitabevi 1996;3:76-108.
3. Guyton AC, Hall JE. Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. Çev. Ed. Yeğen BÇ. Zar Fizyolojisi, Sinir ve Kas. Düz Kasın Uyarılması ve Kasılması. Güneş Tıp Kitabevleri 2017;8:97-104.
4. Guyton AC, Hall JE. Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. Çev. Ed. Yeğen BÇ. Kalp. Kalp Kası; Bir Pompa Olarak Kalp ve Kalp Kapaklarının İşlevi. Nobel Tıp Kitabevleri 2013;9: 101-10.
5. Costanzo LS. Fizyoloji. Çev. Ed. Öztürk L. Hücre Fizyolojisi. Düz Kas. Hipokrat Kitabevi 2018;1:40-4.
6. Rhoades RA, Bell DR. Tıbbi Fizyoloji Klinik Tıbbın Temelleri. Çev. Ed. Ağar E. Plazma Zarı, Zarda Taşınma ve Dinlenme Zar Potansiyeli. Solüt Taşıma Mekanizmaları. İstanbul Tıp Kitabevleri 2017;2:26-36.
7. Guyton AC, Hall JE. Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. Çev. Ed. Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ. Hücre zarında Maddelerin Taşınması. Zardan Maddelerin Aktif Taşınımı. Nobel Tıp Kitabevleri 2007;4:45-56.
8. Penniston JT, Enyedi A. Modulation of the plasma membrane Ca^{2+} pump. J Membr Biol 1998;165(2):101-9.
9. Carafoli E. Calcium pump of the plasma membrane. Physiol Rev 1991;71:129-153.
10. Marin J, Encabo A, Briones A, Garcia-Cohen EC, and Alonso MJ. Mechanisms involved in the cellular calcium homeostasis in vascular smooth muscle: calcium pumps. Life Sci 1999;64:279-303.
11. Wuytack F, Raeymaekers L. The Ca^{2+} -transport ATPases from the plasma membrane. J Bioenerg Biomembr 1992;24:285-300.
12. Lee CH, Poburko D, Kuo KH, Seow CY, and van Breemen C. Ca^{2+} oscillations, gradients, and homeostasis in vascular smooth muscle. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002;282:H1571-83.
13. MacLennan DH, Abu-Abed M, and Kang C. Structure-function relationships in Ca^{2+} cycling proteins, J Mol Cell Cardiol 2002;34:897-918.
14. Periasamy M, Kalyanasundaram A. Serca Pump Isoforms: Their Role in Calcium Transport and Disease. Muscle Nerve 2007;35:430-42.
15. Rossi AE, Dirksen RT. Sarcoplasmic reticulum: the dynamic calcium governor of muscle. Muscle Nerve 2006;33:715-31.
16. Zwaal R, Van Baelen K, Groenen J, van Geel A, Rottiers V, Kaletta T, et al. The sarco-endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase is required for deve-

- lopment and muscle function in *Caenorhabditis elegans*. *J Biol Chem* 2001;276:43557-63.
17. Sweadner KJ, Donnet C. Structural similarities of Na,K-ATPase and SERCA, the Ca²⁺-ATPase of the sarcoplasmic reticulum. *Biochem J* 2001;356:685-704.
 18. Sumbilla C, Lewis D, Hammerschmidt T, and Inesi G. The slippage of the Ca²⁺ pump and its control by anions and curcumin in skeletal and cardiac sarcoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 2002;277:13900-6.
 19. MacLennan DH, Toyofuku T. Structure-function relationships in the Ca²⁺ pump of the sarcoplasmic reticulum. *Biochem Soc Trans* 1992;20:559-62.
 20. Martonosi AN, Pikula S. The network of calcium regulation in muscle. *Acta Biochim Pol* 2003;50:1-30.
 21. Misquitta CM, Mack DP, and Grover AK. Sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺ (SERCA)-pumps: link to heart beats and calcium waves, *Cell Calcium*, 1999;25:277-90.
 22. Vangheluwe P, Raeymaekers L, Dode L, and Wuytack F. Modulating sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺ ATPase 2 (SERCA2) activity: cell biological implications. *Cell Calcium* 2005;38:291-302.
 23. Wu KD, Bungard D, and Lytton J. Regulation of SERCA Ca²⁺ pump expression by cytoplasmic Ca²⁺ in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;280:C843-51.
 24. Dally S, Bredoux R, Corvazier E, Andersen JP, Clausen JD, Dode L, et al. Ca²⁺-ATPases in non-failing and failing heart: evidence for a novel cardiac sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase 2 isoform (SERCA2c). *Biochem J* 2006;395:249-58.
 25. Frank KF, Erdmann E, Schwinger RHG. Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase modulates cardiac contraction and relaxation. *Cardiovasc Res* 2003;57:20-7.
 26. Lompre AM. Sarcoplasmic reticulum in vascular cells in hypertension and during proliferation, *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999;26:553-7.
 27. Burk SE, Lytton J, MacLennan DH, Shull GE. cDNA cloning, functional expression, and mRNA tissue distribution of a third organellar Ca²⁺ pump. *J Biol Chem* 1989;264:18561-68.
 28. Wuytack F, Papp B, Verboomen H, Raeymaekers L, Dode L, Bobe R, et al. A sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase 3-type Ca²⁺ pump is expressed in platelets, in lymphoid cells, and in mast cells. *J Biol Chem* 1994;269:1410-16.
 29. Bobe R, Bredoux R, Wuytack F, Quarck R, Kovács T, Papp B, et al. The rat platelet 97-kDa Ca²⁺ATPase isoform is the sarcoendoplasmic reticulum Ca²⁺ATPase 3 protein. *J Biol Chem* 1994;269:1417-24.

30. Xu C, Ma H, Inesi G, Al-Shawi MK, Toyoshima C. Specific structural requirements for the inhibitory effect of thapsigargin on the Ca²⁺ ATPase SERCA. *J Biol Chem* 2004;279:17973-79.
31. Louch EW, Stokke MK, Sjaastad I, Christensen G, Sejersted OM. No rest for the weary: diastolic calcium homeostasis in the normal and failing myocardium. *Physiology* 2012;27:308-23.
32. Martonosi AN. Animal electricity, Ca²⁺ and muscle contraction. A brief history of muscle research. *Acta Biochim Pol* 2000;47:493-516.
33. Öztetik E. A study of calcium release from rat liver microsomes by thapsigargin induction. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2012;59:135-140.
34. Koçaklı ve ark. Miyokardın Diyastolde Kalsiyum Homeostazı. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 2017;26(1):105-23.
35. Petegem VF, Lau K. Ryanodine Receptor (RyR). In: Choi S. (eds) *Encyclopedia of Signalling Molecules*. Springer, New York, 2012.
36. Movsesianz MA, Nishikawa M, Adelstein RS. Phosphorylation of phospholamban by calcium- activated, phospholipid-dependent protein kinase, stimulation of cardiac sarcoplasmic reticulum calcium uptake. *Biol Chem* 1984;259:8029-32.
37. Chu G, Lester JW, Young KB, Luo W, Zhai J, Kranias EG. A single site (Ser16) phosphorylation in phospholamban is sufficient in mediating its maximal cardiac responses to beta-agonists. *J Biol Chem* 2000;275:38938-43.
38. del Corso C, Ostrovskaya O, McAllister CE, Murray K, Hatton WJ, Gurney AM, Spencer NJ, and Wilson SM. Effects of aging on Ca²⁺ signaling in murine mesenteric arterial smooth muscle cells. *Mech Ageing Dev* 2006;127:315-23.
39. Delmas P, Brown DA. Junctional signaling microdomains: bridging the gap between the neuronal cell surface and Ca²⁺ stores. *Neuron* 2002;36:787-90.
40. McIvor ME, Orchard CH, Lakatta EG. Dissociation of changes in apparent myofibrillar Ca²⁺ sensitivity and twitch relaxation induced by adrenergic and cholinergic stimulation in isolated ferret cardiac muscle. *J Gen Physiol* 1988;92:509-29.
41. Hove-Madsen L, Bers DM. Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ uptake and thapsigargin sensitivity in permeabilized rabbit and rat ventricular myocytes. *Circ Res* 1993;73:820-8.
42. Picht E, DeSantiago J, Huke S, Kaetzel MA, Dedman JR, Bers DM. CaM-KII inhibition targeted to the sarcoplasmic reticulum inhibits frequency-dependent acceleration of relaxation and Ca²⁺ current facilitation. *J Mol Cell Cardiol* 2007;42:196-205.

43. Lukyanenko V, Gyorke I, Gyorke S. Regulation of calcium release by calcium inside the sarcoplasmic reticulum in ventricular myocytes. *Pflügers Arch* 1996;432:1047-54.
44. Shannon TR, Ginsburg KS, Bers DM. Quantitative assessment of the SR Ca^{2+} leak-load relationship. *Circ Res* 2002;91:594-600.
45. Santiago DJ, Curran JW, Bers DM, Lederer WJ, Stern MD, Rios E, Shannon TR. Ca^{2+} sparks do not explain all ryanodine receptor-mediated SR Ca^{2+} leak in mouse ventricular myocytes. *Biophys J* 2010;98:2111-20.
46. Li L, Louch WE, Niederer SA, Andersson KB, Christensen G, Sejersted OM, Smith NP. Calcium dynamics in the ventricular myocytes of SERCA2 knockout mice: a modeling study. *Biophys J* 2011;100:322-31.
47. Wanichawan P, Louch WE, Hortemo KH, Austbo B, Lunde PK, Scott JD, Sejersted OM, Carlson CR. Full-length cardiac Na/Ca^{2+} exchanger 1 protein is not phosphorylated by protein kinase A. *Am J Physiol Cell Physiol* 2011;300:C989-97.
48. Neco P, Rose B, Huynh N, Zhang R, Bridge JH, Philipson KD, Goldhaber JJ. Sodium-Calcium exchange is essential for effective triggering of calcium release in mouse heart. *Biophys J* 2010;99:755-64.
49. Swift F, Tovsrud N, Sjaastad I, Sejersted OM, Niggli E, Egger M. Functional coupling of alpha2- isoform Na^+/K^+ -ATPase and Ca^{2+} extrusion through the Na/Ca^{2+} -exchanger in cardiomyocytes. *Cell Calcium* 2010;48:54-60.
50. Takeshima H, Komazaki S, Nishi M, Iino M, Kangawa K. Junctophilins: a novel family of junctional membrane complex proteins. *Mol Cell* 2000;6:11-22.
51. Ranu HK, Terracciano CM, Davia K, Bernobich E, Chaudhri B, Robinson SE, Bin KZ, Hajjar RJ, MacLeod KT, Harding SE. Effects of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -exchanger overexpression on excitation-contraction coupling in adult rabbit ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 2002;34:389-400.
52. Ozdemir S, Bito V, Holemans P, Vinet L, Mercadier JJ, Varro A, Sipido KR. Pharmacological inhibition of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange results in increased cellular Ca^{2+} load attributable to the predominance of forward mode block. *Circ Res* 2008;102:1398-1405.
53. Hilgemann DW. New insights into the molecular and cellular workings of the cardiac $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004;287:C1167-72.
54. Trafford AW, Sibbring GC, Diaz ME, Eisner DA. The effects of low concentrations of caffeine on spontaneous Ca^{2+} release in isolated rat ventricular myocytes. *Cell Calcium* 2000;28:269-76.
55. Cohen CJ, Fozzard HA, Sheu SS. Increase in intracellular sodium ion activity during stimulation in mammalian cardiac muscle. *Circ Res* 1982;50:651-62.

56. Mørk HK, Sjaastad I, Sejersted OM, Louch WE. Slowing of cardiomyocyte Ca^{2+} release and contraction during heart failure progression in postinfarction mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;296: H1069-79.
57. Sedej S, Heinzl FR, Walther S, Dybkova N, Wakula P, Groborz J, Gronau P, Maier LS, Vos MA, Lai FA, Napolitano C, Priori SG, Kockskamper J, Pieske B. Na^{+} -dependent SR Ca^{2+} overload induces arrhythmogenic events in Mouse cardiomyocytes with a human CPVT mutation. *Cardiovasc Res* 2010;87:50-9.
58. Stokke MK, Hougen K, Sjaastad I, Louch WE, Briston SJ, Enger UH, Andersson KB, Christensen G, Eisner DA, Sejersted OM, Trafford AW. Reduced SERCA2 abundance decreases the propensity for Ca^{2+} wave development in ventricular myocytes. *Cardiovasc Res* 2010;86:63-71.
59. Stokke MK, Briston SJ, Jolle GF, Manzoor I, Louch WE, Oyehaug L, Christensen G, Eisner DA, Trafford AW, Sejersted OM, Sjaastad I. Ca^{2+} wave probability is determined by the balance between SERCA2-dependent Ca^{2+} reuptake and threshold SR Ca^{2+} content. *Cardiovasc Res* 2011;90:503-12.