

Los canales de calcio tipo T: estructura, función y canalopatías

Maricruz **Rangel-Galván**

El transporte de nutrientes del ambiente extracelular al intracelular es uno de los procesos fundamentales que tiene la célula para llevar a cabo diversas funciones fisiológicas. Entre los nutrientes fundamentales que necesita la célula para sobrevivir se encuentran los iones inorgánicos como el sodio, el potasio, el calcio o el cloro. Sin embargo, a pesar de su tamaño pequeño, el paso de los iones inorgánicos hacia las células se ve obstaculizado por su carga. Proteínas insertadas en la membrana celular han evolucionado para poder permitir el paso de estos iones a la célula. Se ha observado una especialización de dichas proteínas para permitir el paso de determinados iones y no de otros. La función de estos iones es regulatoria, esto es, fungen como moléculas mensajeras que desencadenan vías de señalización o procesos celulares. Tienen también una función electrogénica debido a que polarizan la membrana plasmática, como ocurre en las neuronas, células especializadas en el transporte de señales eléctricas. Los canales de calcio dependientes de voltaje (Ca_v s) son proteínas transmembranales que permiten el influjo de iones calcio en la célula y cuya apertura depende de un cambio de voltaje (cambio de la polarización de membrana). El calcio intracelular participa en la regulación de diversos procesos celulares como la contracción muscular, la liberación de vesículas en terminales sinápticas,

la quimiotaxis, la apoptosis, etcétera. Asimismo, ayuda a establecer junto con otras proteínas transmembranales el potencial de membrana de reposo (Catterall y cols., 2005).

Los Ca_v s son miembros de una superfamilia de canales iónicos que incluye, entre otros, a los canales de potasio y los canales de sodio, ambos dependientes de voltaje. En 1984, Carbone y Lux usaron el término “*Low Voltage Activated*” (LVA; en español: activados a bajos voltajes) y “*High Voltage Activated*” (HVA, activados a altos voltajes) para agrupar las corrientes de calcio de acuerdo con su umbral de activación. La clasificación de los Ca_v s por sus propiedades biofísicas se complementa según su sensibilidad a moléculas bloqueadoras de canal. Dentro de los canales HVA, la corriente de calcio tipo L (larga duración) es sensible a las dihidropiridinas (DHP), mientras que la corriente de calcio tipo N (no-tipo L y neuronal) es bloqueada por la ω -conotoxina proveniente del molusco *Conus geographus*; a su vez, la corriente de calcio tipo P (Purkinje) es sensible a la ω -agatoxina de la araña *Agelenopsis aperta*; también la corriente de calcio tipo Q es sensible a esta última toxina, debido a esto se piensa que puede tener la misma estructura que el canal tipo P por lo que se le denomina de tipo P/Q; y por último, la corriente tipo R (residual) permanece en presencia de DHP y de las toxinas mencionadas anteriormente (Dolphin, 2006). En lo que respecta a los canales LVA, también llamados canales de calcio tipo T (transitoria), se bloquea por la kurtoxina proveniente del escorpión *Parabuthus transvaalicus*, sin embargo, al no ser selectiva, no permite distinguirla de los otros subtipos (Lee y cols., 2012).

De acuerdo con los estudios filogenéticos, la presencia de los Ca_v s en algas sugiere un ancestro común en plantas y animales; cabe notar que es ausente en el reino Fungi. Los coanoflagelados, eucariotas unicelulares parientes más próximos a los animales (metazoos), y el nemátodo *Caenorhabditis elegans* expresan canales LVA y HVA. Esto indica que la separación de ambas subfamilias

ocurrió aproximadamente hace 500 millones de años. Además, se ha observado que los canales LVA están ausentes en esponjas y ctenóforos, ambos pertenecientes al reino Animalia (Metazoa), lo que sugiere que se perdieron independientemente en varios linajes tempranos de los metazoos. En cambio, los canales HVA se expresan en coanoflagelados, esponjas, placozoos, cnidarios (a este grupo pertenecen las medusas) y también en los animales con simetría bilateral. En estos grupos los Ca_v s presentan propiedades biofísicas particulares que nos indican cómo han ido evolucionando a lo largo del tiempo. Debido a esto podemos concluir que los canales HVA y LVA han tomado rutas evolutivas distintas (Moran y cols., 2015).

ESTRUCTURA, PERMEABILIDAD Y CINÉTICA

La subunidad alfa (α_1) de los Ca_v s es codificada por 10 genes distintos. Existió una divergencia del gen ancestral α_1 en las subfamilias LVA y HVA. La subfamilia HVA se diversificó a su vez en Ca_v1 y Ca_v2 , mientras que la subfamilia LVA solo la constituye Ca_v3 , por ello se domina a los canales de calcio tipo T como canales LVA o Ca_v3 de manera indistinta. Eventualmente, la subfamilia Ca_v1 evolucionó a 4 genes ($Ca_v1.1$ - $Ca_v1.4$) mientras que cada subfamilia Ca_v2 ($Ca_v2.1$ - $Ca_v2.3$) y Ca_v3 ($Ca_v3.1$ - $Ca_v3.3$) evolucionó en 3 genes (Perez-Reyes, 2003). Los Ca_v s se componen de una subunidad α_1 y pueden tener asociada otra subunidad proteica dependiendo del subtipo de canal que se trate. La subunidad α_1 posee 4 dominios y cada dominio tiene 6 segmentos transmembranales (S1-S6) haciendo un total de 24 segmentos transmembranales. El segmento S4, al poseer un mayor número de aminoácidos arginina y lisina, tiene una carga positiva que lo hace más susceptible a cambios en la polarización de la membrana; por ello, es el sensor de voltaje que está acoplado al segmento S6 que participa en el mecanismo de compuerta del canal. Entre los segmentos S5 y S6 se encuentra el segmento P que contiene los aminoácidos que participan en el filtro de selectividad. Con respecto a los canales Ca_v3 hasta la fecha sólo se conoce que están

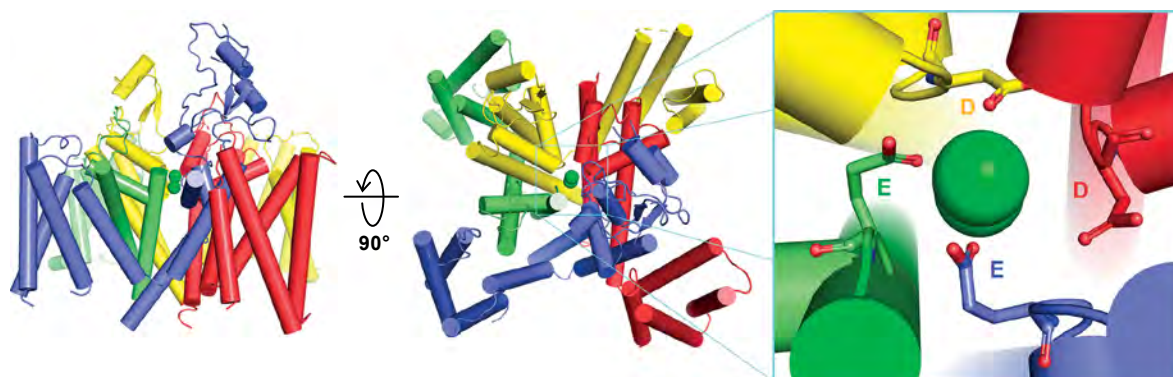


Figura 1. Estructura tridimensional por criomicroscopía electrónica del canal $Ca_v3.1$. A la izquierda se observa una vista lateral del canal $Ca_v3.1$ con dos iones calcio cerca del vestíbulo extracelular. En la figura de en medio se hace un giro de 90° para obtener una vista extracelular del canal. A la derecha se muestra un acercamiento del poro del canal donde se observan las cadenas laterales del filtro de selectividad EEDD. Imagen basada en la estructura del $Ca_v3.1$ con código PDB: 6kzp.

conformados por la subunidad α_1 (Weiss y Zamponi, 2019).

Esta subunidad forma el poro del canal e interactúa con segundos mensajeros o con moléculas moduladoras del canal. Estas últimas pueden ser ligandos endógenos como agentes oxidativos, proteínas cinasas, receptores dopaminérgicos, etcétera (Zhang y cols., 2013).

La relación de permeabilidad de los iones de calcio con respecto a los iones de sodio, para los Ca_v s, es de 1000:1 aproximadamente. Tal selectividad es necesaria debido a que los iones sodio se encuentran en mayor cantidad en el espacio extracelular y ambos iones tienen radios de alrededor de 2 Å. Por otro lado, se sabe que el paso de los iones de calcio es de 10^6 iones \times seg $^{-1}$ lo que plantea un problema en los modelos de permeabilidad debido a la alta selectividad y a su rápida velocidad de flujo. Los modelos planteados involucran múltiples sitios de unión en el poro del canal. Los sitios múltiples pueden incrementar la velocidad del flujo de los iones debido a la repulsión electrostática de la interacción ion-ion y a la competencia por los sitios de unión. Otro factor que puede aumentar el flujo de iones es la flexibilidad en el poro del canal. Las cadenas laterales de los aminoácidos encargados de la selectividad estabilizarían a los iones de calcio formando un diámetro de alrededor de 2 Å y, en ausencia de iones de calcio, por repulsión electrostática podrían formar un diámetro de aproximadamente 6 Å (Sather

y McCleskey, 2003). Hasta la fecha se cuenta con dos estructuras moleculares obtenidas por criomicroscopía electrónica del canal $Ca_v3.1$, a una resolución de 23 Å (Walsh y cols., 2009) y de 3.3 Å (Zhao y cols., 2019). En este último trabajo se observan dos iones de calcio dentro del poro del canal, lo que indica los sitios múltiples que participan en el flujo de iones calcio (Figura 1).

Las técnicas experimentales electrofisiológicas permiten caracterizar una corriente iónica de acuerdo con la velocidad en que un canal iónico pasa a sus diversos estados conformacionales denominada cinética del canal. Los canales tienen por lo regular tres estados conformacionales: cerrado, abierto e inactivado. Cuando pasa de cerrado a abierto se denomina fase de activación, el caso contrario es la deactivación; cuando pasa de abierto a inactivado se denomina fase de inactivación, el caso contrario es la reactivación y finalmente, cuando pasa de inactivado a cerrado, se conoce como fase de recuperación de la inactivación y el caso contrario es la inactivación en estado cerrado. El tiempo en que pasan de una fase a otra es fundamental para caracterizar corrientes iónicas.

Por su cinética de canal, los canales Ca_v3 se caracterizan por abrirse en respuesta a pequeñas despolarizaciones de membrana. Con una estimulación sostenida, la corriente es transitoria, esto es

que posee una rápida inactivación y una lenta deactivación. Otra característica importante de estos canales es que, en un rango pequeño de voltaje cercano al potencial de membrana de reposo, los canales pueden abrirse sin inactivar completamente dejando pasar a la célula una cantidad de iones de calcio; a esta corriente se le conoce como corriente de ventana, y despolariza a la membrana celular. Este rasgo hace que los canales de calcio sean ideales para regular la excitabilidad celular y generar comportamientos oscilatorios de voltaje importantes en determinados sistemas.

La cinética de los subtipos del canal Ca_v3 difiere también, de manera que el $Ca_v3.3$ tiene una activación e inactivación más lentas en comparación con el $Ca_v3.1$ y el $Ca_v3.2$. Dicha cinética se ve asociada con disparos de ráfaga sostenida para el $Ca_v3.3$, mientras que el $Ca_v3.1$ y el $Ca_v3.2$ generan ráfagas cortas de potenciales de acción (Perez-Reyes, 2003). Los canales Ca_v3 se ubican principalmente en el sistema nervioso central, el sistema nervioso periférico, el sistema endocrino y el sistema cardiovascular. La expresión de los subtipos del canal Ca_v3 difiere en el organismo, así se ha observado que el $Ca_v3.3$ se expresa principalmente en el sistema nervioso central mientras que el $Ca_v3.2$ y el $Ca_v3.1$ lo hacen en el sistema nervioso periférico (Talley y cols., 1999).

FUNCIONES EN ESTADO FISIOLÓGICO

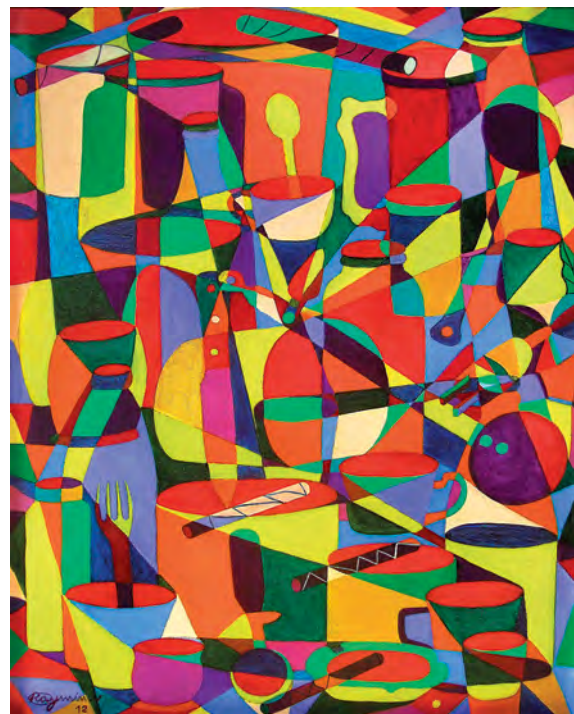
Dentro de las funciones en las que intervienen los canales Ca_v3 está el movimiento de flagelos (Moran y cols., 2015), la descarga marcapaso en el corazón, las oscilaciones del potencial de membrana en el tálamo, la secreción de hormonas, la contracción del músculo liso y la fertilización (Perez-Reyes, 2003). En particular, los subtipos $Ca_v3.1$ y $Ca_v3.3$ tienen la función de generar las oscilaciones tálamicas, mientras que los $Ca_v3.2$ se asocian a la contracción y proliferación del músculo liso así como a la liberación de la aldosterona y el cortisol (Catterall y cols., 2005).

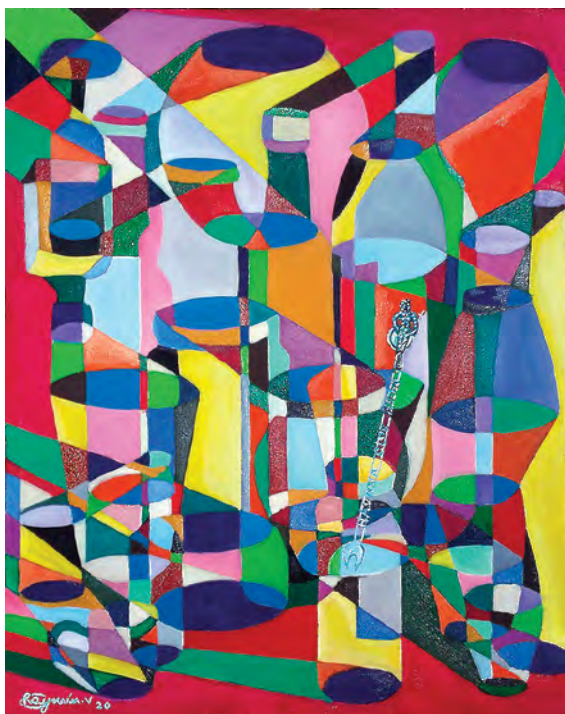
CANALOPATÍAS

Cuando los canales iónicos o las proteínas que los regulan no funcionan de manera adecuada generan enfermedades denominadas canalopatías. El mal funcionamiento de los canales Ca_v3 genera, por lo general, una sobreexcitación en el sistema donde están expresados, es por ello que moléculas que bloquean su función son posibles herramientas farmacológicas. A continuación mencionamos algunas enfermedades relacionadas con la disfunción de estos canales.

Los canales Ca_v3 contribuyen a la excitabilidad de las fibras aferentes primarias en el dolor neuropático y el dolor neurogénico. El subtipo $Ca_v3.2$ es el principalmente relacionado con este padecimiento por su distribución periférica. Un tratamiento propuesto involucra considerar dos blancos terapéuticos: el $Ca_v3.2$ y los receptores CB1/CB2. Por ejemplo, el ligando endógeno endocannabinoide Anandamida (Ross y cols., 2009) y los compuestos sintetizados derivados del carbazol NMP (Neuro Molecular Production) (Gadotti y cols., 2013; You y cols., 2011) actúan como bloqueadores de los

© Raymín. Sin título, óleo/lienzo, 2019.





© Raymín. Sin título, óleo/lienzo, 2019.

canales Ca_v3 y como ligandos de los receptores cannabinoideos. Dentro de este último grupo de moléculas, el compuesto NMP-7 tiene una mayor afinidad sobre los $Ca_v3.2$ (Berger y cols., 2014).

En cuanto a desórdenes de depresión mayor, un estudio reciente demostró que durante este padecimiento existe una sobreexcitación de las neuronas de la habénula lateral. Se ha observado que en la sobreexcitación participan los receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) y los canales Ca_v3 . El bloqueo con ketamina para los receptores NMDA o los bloqueadores mibefradil y etosuximida tienen un efecto antidepressivo rápido (Yang y cols., 2018).

En el corazón adulto de humano el canal de calcio tipo L es el que participa en mayor porcentaje en los potenciales de acción cardiacos, mientras que los canales Ca_v3 facilitan la despolarización en el nodo sinoauricular. La expresión de los canales Ca_v3 en el corazón es mayor durante el desarrollo embrionario y disminuye en ciertas regiones en el corazón adulto. Sin embargo, en condiciones patológicas se ha observado que los canales Ca_v3 se vuelven a expresar en miocitos ventriculares y atriales para generar hipertrofia y

falla cardiaca, contribuyendo a un comportamiento anormal en el acoplamiento excitación-contracción y en la actividad eléctrica cardiaca (Ono e Iijima, 2010).

Los canales Ca_v3 participan en las disritmias tálamo-corticales observadas en enfermedades tales como epilepsia, desórdenes neurológicos y neuropsiquiátricos, temblor asociado a la enfermedad de Parkinson, dolor neurogénico, entre otros (Perez-Reyes, 2003).

BLOQUEADORES DE LOS CANALES Ca_v3

Las moléculas bloqueadoras de los canales Ca_v3 pueden ser clasificadas en tres tipos: iones divalentes (por ejemplo, níquel y cadmio), toxinas (como la kurtoxina y la protoxina) y moléculas orgánicas. Sobre este último grupo se han desarrollado fármacos para tratar las canalopatías de dichos canales y son de las que hablaremos más adelante.

Los fármacos aprobados para el tratamiento de la epilepsia son la etosuximida, el ácido valproico y la zonizamida. El bloqueador Z944 se encuentra en fase II para el tratamiento del dolor, su rango de afinidad es del orden nanomolar, como los bloqueadores TTA-A2 y TTA-P2. Otro fármaco que se encuentra en fase II para el tratamiento de epilepsia generalizada es el ACT-709478.

La nimodipina es un bloqueador inespecífico de los canales Ca_v3 (bloquea también los canales de calcio tipo L) que está aprobada para el tratamiento de la hipertensión arterial (Weiss y Zamponi, 2019). Anteriormente el fármaco mibefradil se prescribía como tratamiento de la hipertensión arterial, sin embargo, salió del mercado por la interacción que tenía con otros fármacos incrementando efectos secundarios, algunos de ellos mortales.

A partir del mibefradil se han desarrollado fármacos derivados como el NNC-55-0396, el cual reemplaza la cadena lateral del acetato de metóxido por un ciclopropano-carboxilato. Esta molécula es más estable al evitar la formación del metabolito



© Raymín. Sin título, óleo/lienzo, 2019.

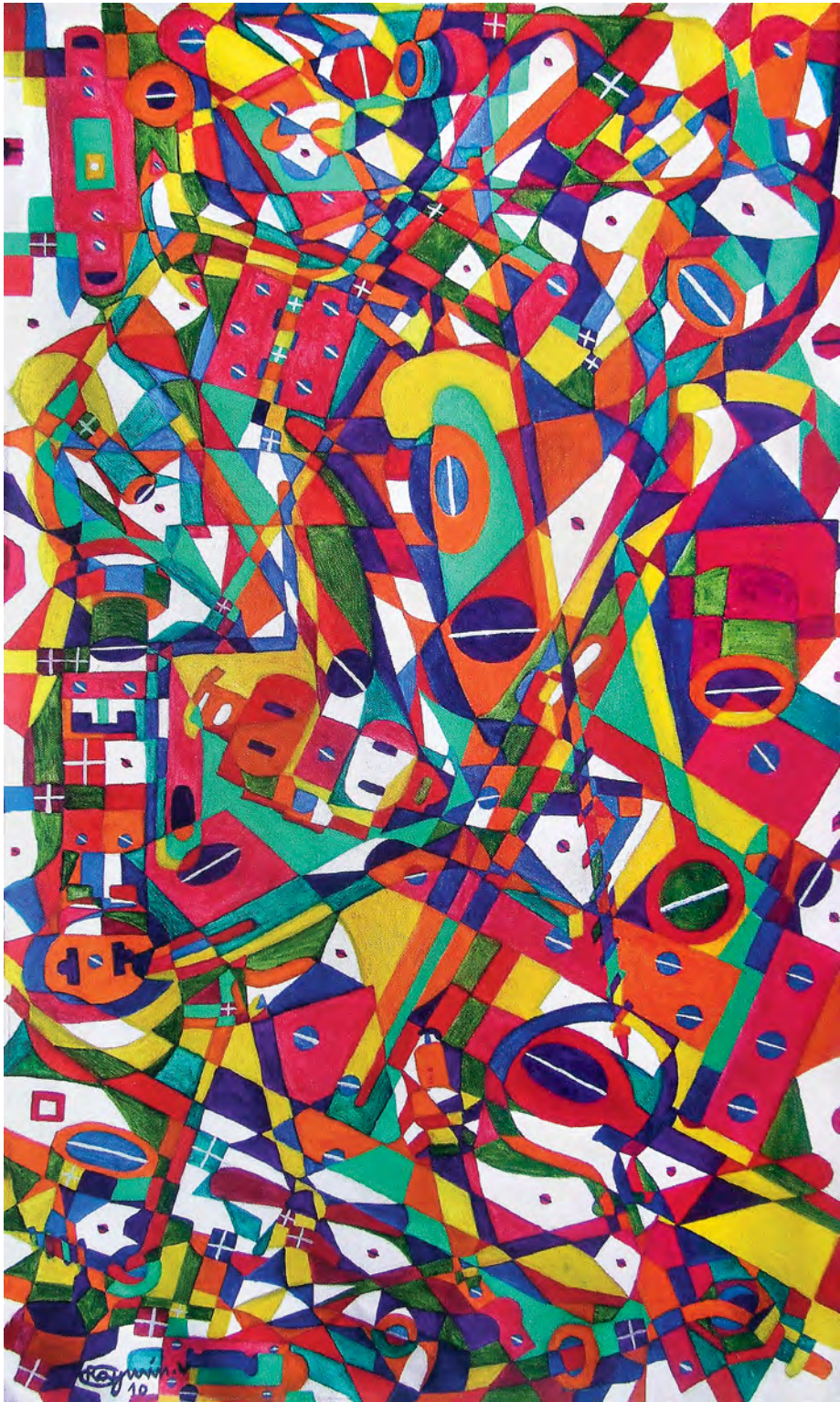
del mibefradil llamado dm-mibefradil (Ro 40-5966), que se forma cuando se hidroliza la cadena lateral del acetato metoxi por acción de enzimas intracelulares (Li y cols., 2005).

Podemos concluir que los canales Ca_v3 son muy importantes debido a que participan en diversos procesos fisiológicos y patológicos. El desarrollo de fármacos que actúen sobre estos blancos moleculares generará mejoras en el tratamiento de las canalopatías relacionadas.

R E F E R E N C I A S

- Berger ND, Gadotti VM, Petrov RR, Chapman K, Diaz P, Zamponi GW (2014). NMP-7 inhibits chronic inflammatory and neuropathic pain via block of $Ca_v3.2$ T-type calcium channels and activation of CB2 receptors. *Mol. Pain* 10:1-9.
- Catterall WA, Perez-Reyes E, Snutch TP, Striessnig J (2005). International Union of Pharmacology. XLVIII. Nomenclature and Structure-Function Relationships of Voltage-Gated Calcium Channels. *Pharmacol Rev* 57:411-425.
- Dolphin AC (2006). A short history of voltage-gated calcium channels. *Br. J. Pharmacol* 147:56-62.
- Gadotti VM, You H, Petrov RR, Berger ND, Diaz P, Zamponi GW (2013). Analgesic Effect of a Mixed T-Type Channel Inhibitor/CB2 Receptor Agonist. *Mol. Pain* 9:1744-8069-9-32.
- Lee CW, Bae C, Lee J, Ryu JH, Kim HH, Kohno T, Swartz KJ, Kim JI (2012). Solution structure of kurtoxin: A gating modifier selective for Ca_v3 voltage-gated Ca^{2+} channels. *Biochemistry* 51:1862-1873.
- Li M, Hansen JB, Huang L, Keyser BM, Taylor JT (2005). Towards selective antagonists of T-type calcium channels: Design, characterization and potential applications of NNC 55-0396. *Cardiovasc. Drug Rev* 23:173-196.
- Moran Y, Barzilai MG, Liebeskind BJ, Zakon HH (2015). Evolution of voltage-gated ion channels at the emergence of Metazoa. *J. Exp. Biol* 218:515-525.
- Ono K, Iijima T (2010). Cardiac T-type Ca^{2+} channels in the heart. *J. Mol. Cell. Cardiol* 48:65-70.
- Perez-Reyes E (2003). Molecular physiology of low-voltage-activated T-type calcium channels. *Physiol. Rev* 83:117-161.
- Ross HR, Gilmore AJ, Connor M (2009). Inhibition of human recombinant T-type calcium channels by the endocannabinoid N-arachidonoyl dopamine. *Br. J. Pharmacol* 156:740-750.
- Sather WA, McCleskey EW (2003). Permeation and Selectivity in Calcium Channels. *Annu. Rev. Physiol* 65:133-159.
- Talley EM, Cribbs LL, Lee JH, Daud A, Perez-Reyes E, Bayliss DA (1999). Differential distribution of three members of a gene family encoding low voltage-activated (T-type) calcium channels. *J. Neurosci* 19:1895-911.
- Walsh CP, Davies A, Butcher AJ, Dolphin AC, Kitmitto A (2009). Three-dimensional structure of $Ca_v3.1$: comparison with the cardiac L-type voltage-gated calcium channel monomer architecture. *J. Biol. Chem* 284:22310-21.
- Weiss N, Zamponi GW (2019). T-type calcium channels: From molecule to therapeutic opportunities. *Int. J. Biochem. Cell Biol* 108:34-39.
- Yang Y, Cui Y, Sang K, Dong Y, Ni Z, Ma S, Hu H (2018). Ketamine blocks bursting in the lateral habenula to rapidly relieve depression. *Nature* 554:317-322.
- You H, Gadotti VM, Petrov RR, Zamponi GW, Diaz P (2011). Functional characterization and analgesic effects of mixed cannabinoid receptor/T-type channel ligands. *Mol. Pain* 7:89.
- Zhang Y, Jiang X, Snutch TP, Tao J (2013). Modulation of low-voltage-activated T-type Ca^{2+} channels. *Biochim. Biophys. Acta* 1828:1550-9.
- Zhao Y, Huang G, Wu Q, Wu K, Li R, Lei J, Pan X, Yan N (2019). Cryo-EM structures of apo and antagonist-bound human $Ca_v3.1$. *Nature* 1-6.

Maricruz Rangel-Galván
Laboratorio de Química Teórica
Facultad de Ciencias Químicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
marirangal@gmail.com



© Raymín. *Mis herramientas 2*, óleo/lienzo, 2019.