

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie



Zuzana Pěkníková

Úloha napětově řízených vápníkových kanálů v tukových buňkách savců

The role of voltage-gated calcium channels in mammalian adipose cells

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Lucie Ryšková

Praha, 2024

Poděkování

Chtěla bych poděkovat mojí školitelce Mgr. Lucii Ryškové za cenné rady při psaní této práce. Dále chci poděkovat všem, co mi byli oporou při studiu. Děkuji.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedl/a všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 24. 4. 2024

Zuzana Pěkníková

Abstrakt

Tukové buňky (adipocyty) představují významné regulátory tukové tkáně i celého organismu. Tyto buňky se aktivně podílejí na celotělové energetické homeostáze a změny v jejich funkci a metabolismu mají dalekosáhlý dopad na zdravotní stav jedince. Porozumění molekulárním mechanismům, které orchestrují správné fungování buněčných pochodů adipocytů, může významně pomoci v léčbě řady onemocnění včetně obezity, diabetu II. typu a dalších. Nemalé úsilí je proto v současné době vynaloženo na výzkum různých signálních drah zapojených do života zdravého adipocytu. Vápník, respektive jeho aktivní forma Ca^{2+} , je esenciální nástroj buněčné transdukce signálu a spouští řadu biologicky významných procesů ve většině typech buněk včetně adipocytů. Tato bakalářská práce se zabývá regulací vápníkové homeostázy pomocí napětím ovládaných vápníkových kanálů, které se ukazují být v adipocytu aktivní, i přestože se obecně jedná o neexcitabilní tkáň. Práce shrnuje současné poznatky o typu, struktuře a funkci vápníkových kanálů a jejich působení na (pato)fyziologii adipocytu. Zahrnuty jsou i možné terapeutické přínosy založené na regulaci vybraných vápníkových kanálů jako potenciální cíle pro léčbu metabolických poruch.

Klíčová slova: napětím ovládané vápníkové kanály, vápník, adipocyt, obezita

Abstract

Fat cells (adipocytes) are important regulators of adipose tissue and the whole organism. These cells are actively involved in whole-body energy homeostasis and changes in their function and metabolism have a far-reaching impact on an individual's health. Understanding the molecular mechanisms that orchestrate the proper functioning of adipocyte cellular processes can significantly aid in the treatment of a number of diseases including obesity, type II diabetes, and others. Therefore, considerable effort is currently being devoted to investigating the various signaling pathways involved in the life of a healthy adipocyte. Calcium, or its active form Ca^{2+} , is an essential tool for cellular signal transduction and triggers a several biologically important processes in most cell types, including adipocytes. This bachelor thesis focuses on the regulation of calcium homeostasis by voltage-gated calcium channels, which appear to be active in the adipocyte, even though it is generally a non-excitabile tissue. This paper summarizes current knowledge on the type, structure and function of calcium channels and their effects on adipocyte (patho)physiology. Possible therapeutic benefits based on the regulation of selected calcium channels as potential targets for the treatment of metabolic disorders are also included.

Keywords: voltage-gated calcium channels, calcium, adipocyte, obesity

Seznam použitých zkratek

ATP	<i>Adenosine triphosphate</i>	Adenosintrifosfát
BAT	<i>Brown adipose tissue</i>	Hnědá tuková tkáň
CAMKK2	<i>Calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 2</i>	Ca ²⁺ /kalmodulin dependentní protein kináza kinázy 2
CD137	<i>Tumour necrosis factor receptor superfamily</i>	Nadrodina receptorů pro tumor nekrotizující faktor
Cidea	<i>Cell death-inducing DNA fragmentation factor-like effector A</i>	Efektor A podobný faktoru fragmentace DNA indukující buněčnou smrt
CNS		Centrální nervová soustava
Ebf2	<i>EBF Transcription Factor 2</i>	EBF transkripční faktor 2
GLUT4	<i>Glucose transporter type 4</i>	Glukózový transportér typu 4
GPI	<i>Glycosylphosphatidylinositol</i>	Glykosylfosfatidylinositol
HoxC9	<i>Homeobox C9</i>	Homeobox C9
HVA	<i>High voltage activated</i>	Aktivovaný vysokým napětím
Lpl	<i>Lipoprotein lipase</i>	Lipoproteinová lipáza
LVA	<i>Low voltage activated</i>	Aktivovaný nízkým napětím
Myf5	<i>Myogenic factor 5</i>	Myogenní faktor 5
Pgc1A	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor coactivator 1 alpha</i>	Koaktivátor 1-alfa receptoru aktivovaného peroxizomovým proliferátorem
Tcf21	<i>Transcription factor 21</i>	Transkripční faktor 21
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor alpha</i>	Tumor nekrotizující faktor alfa
Ucp1	<i>Uncoupling protein 1</i>	Rozpojující protein 1
VGCC	<i>Voltage-gated calcium channel</i>	Napětově řízený vápníkový kanál
WAT	<i>White adipose tissue</i>	Bílá tuková tkáň

Obsah

1. Úvod	7
2. Funkce a význam tukové tkáně	8
3. Vápník v buněčné signalizaci	10
4. Napětově řízené vápníkové kanály	11
4.1. VGCC kanály aktivovány nízkým napětím	12
4.2. VGCC kanály aktivovány vysokým napětím	12
4.3. Struktura VGCC	13
5. Úloha VGCC v adipocytech	16
6. Závěr	20
7. Reference	21

1. Úvod

V oblasti biomedicíny se stále více zdůrazňuje význam tukové tkáně nejen jako zásobárny energie, ale také jako aktivního metabolického a endokrinního orgánu. Jedním z potenciálně klíčových hráčů ovlivňujících funkci tukové tkáně jsou napětím ovládané vápníkové kanály. Tyto kanály aktivně ovlivňují cytosolickou koncentraci vápenatých iontů a podílí se tak na regulaci buněčné vápníkové signalizaci, která dále může mít vliv například na diferenciaci adipocytů, syntézu tuků nebo uvolňování adipokinů. V této práci chci poukázat na to, jakou roli má bílá tuková tkáň na celkovou homeostázu těla a na onemocnění, která se k ní pojí. To vše za účasti vápníku jako druhého posla, který spouští či reguluje procesy v adipocytech a celém organismu. Cílem této práce je shrnout dosavadní poznatky o typech napětím ovládaných vápníkových kanálů, jejich struktuře a poukázat na jejich roli v rozvoji metabolických poruch jako například obezita, diabetes II. typu, hypertenze, inzulinová rezistence a další. V práci se zaměřuji na vztah vápníkových kanálů a tukové tkáně, přičemž pochopení těchto mechanismů se může uplatnit v medicíně a farmacii, ale také přispět k širšímu pochopení fyziologie tukové tkáně a její role na celkovou homeostázu organismu.

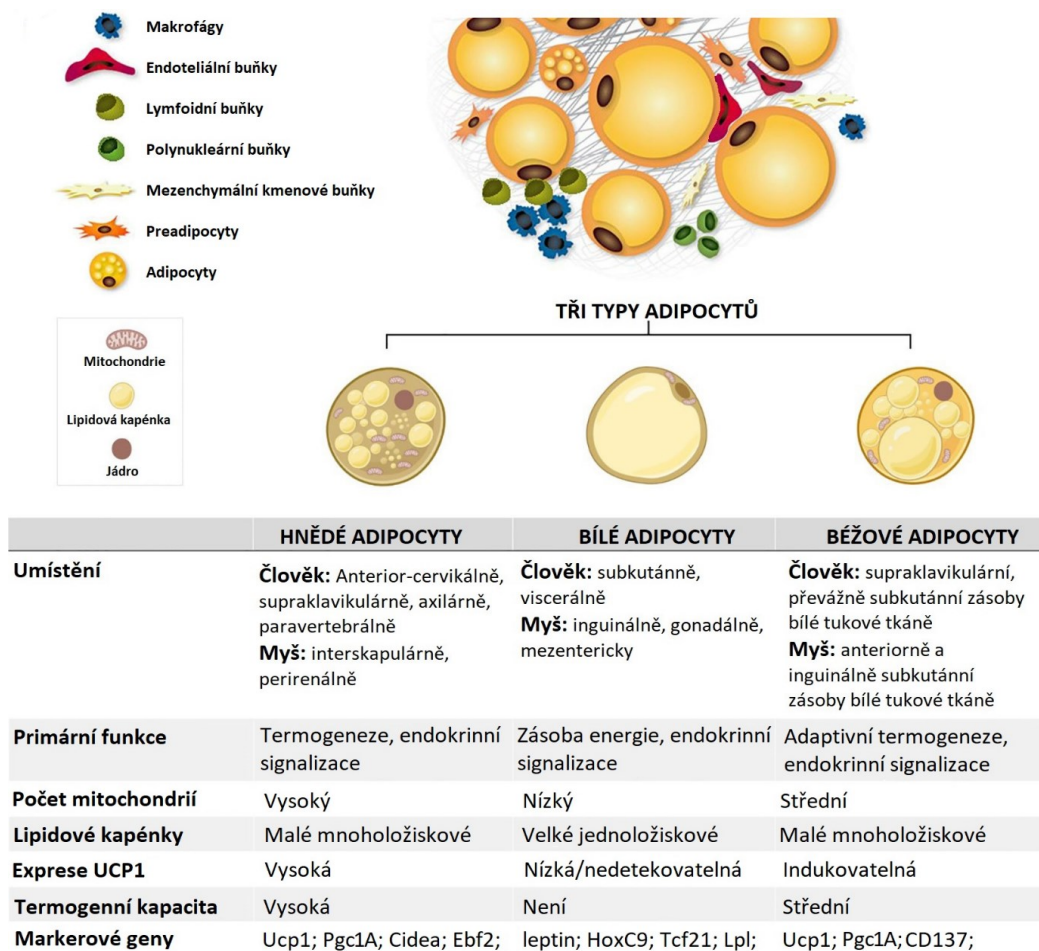
2. Funkce a význam tukové tkáně

Tuková tkáň je významným metabolickým orgánem regulujícím energetickou homeostázu celého těla. Tukovou tkáň savců je možné rozdělit na dva hlavní typy bílou tukovou tkáň (WAT) a hnědou tukovou tkáň (BAT), přičemž každá má své specifické vlastnosti a odlišný původ. Primární funkcí WAT je ukládat i odbourávat lipidy a doplňovat tak tělu energii při zvýšené námaze nebo nedostatku živin. Naopak BAT slouží především k produkci tepla a udržování stálé tělesné teploty. Základní jednotku tukové tkáně tvoří specializované tukové buňky (adipocyty), které představují až 20-30% tkáně. Kromě adipocytů je tkáň obohacena také o stromální vaskulární frakci obsahující fibroblasty, buňky imunologického systému, neurony, preadipocyty a kmenové buňky (Rosenwald *et al.*, 2013; Sun *et al.*, 2020).

BAT je bohatě inervovaná a vaskularizovaná tkáň, která je z většiny tvořena hnědými adipocyty (Obr. 1). Tato tkáň je zodpovědná především za netřesovou termoregulaci a udržování stálé teploty těla. Právě hnědé tukové buňky se specializují na přeměnu chemické energie na teplo za pomoci uncouplingového proteinu 1, který zvyšuje energetický výdej a rozptyluje protonový gradient na vnitřní mitochondriální membráně (Johnson *et al.*, 2023). Tyto adipocyty mají původ podobně jako kosterní svalstvo v mezenchymálních progenitorech, které na rozdíl od bílých adipocytů exprimují myogenní faktor 5 (Myf5) (Seale *et al.*, 2008). Dříve byl názor, že BAT se vyskytuje pouze u dětí. Dnes je jisté, že se tkáň vyskytuje i v menší míře u dospělých lidí, u kterých tvoří až 2% celkové tělesné hmotnosti, a můžeme ji nalézt v šesti anatomicky odlišných oblastech: krční, nadklíčkové, podpažní, paravertebrální, mezihrudní a břišní. Ukazuje se, že BAT může hrát významnou roli v léčbě obezity, diabetu II. typu, hypertenze a dalších civilizačních onemocnění (Xi *et al.*, 2021). Například použití agonistů β 3-adrenergických receptorů, jako je mirabegron, potvrdilo zvýšenou aktivaci BAT a zlepšení celkového metabolismu (Cypess *et al.*, 2015).

Bílá tuková tkáň ukládá přebytečnou energii ve formě triacylglycerolů. Při hladovění poskytuje tuto energii prostřednictvím lipolýzy a uvolňováním mastných kyselin do krevního oběhu. Morfologicky se bílé adipocyty odlišují od hnědých nižším počtem mitochondrií (Obr. 1). Typicky obsahují pouze jednu velkou tukovou kapénku, která často vytlačuje organely jako jádro na periferie. Funkční adipocyty vznikají z preadipocytů procesem zvaným adipogeneze, kdy buňky podstupují proliferaci, diferenciaci a expanzi. WAT byla dlouhou dobu považována za pasivní tkáň. Důležitou změnou bylo objevení její endokrinní funkce popsáním hormonu leptinu, který je výhradně produkovan adipocyty (Zhang *et al.*, 1994). Následné studie prokázaly, že WAT je zodpovědná za sekreci celé řady látek, nazvaných souhrnně adipokiny, které se významně podílejí na fyziologických procesech, jako je regulace příjmu potravy, modulace zánětlivých procesů a regulace glukozového a lipidového metabolismu. Mezi adipokiny lze zařadit i například prozánětlivý

cytokin tumor nekrotizující faktor- α (TNF- α), jehož exprese je zvýšená u obézních jedinců a je spojována s rozvojem inzulínové rezistence (Hotamisligil *et al.*, 1993).



*Obr. 1 Schématické shrnutí morfologie, lokalizace a vlastností hnědých, bílých a béžových adipocytů. Použité zkratky Cidea, cell death-inducing DNA fragmentation factor-like effector A; CD137, tumour necrosis factor receptor superfamily, member 9; Ebf2, EBF Transcription Factor 2; HoxC9, Homeobox C9; Lpl, lipoprotein lipase; Pgc1A, peroxisome proliferator-activated receptor coactivator 1 alpha; Tcf21, Transcription factor 21; UCP1, uncoupling protein 1 (převzato a upraveno z Bourgeois *et al.*, 2019; Ziqubu *et al.*, 2023).*

Je dokázáno, že WAT může podstoupit diferenciaci směrem k BAT (Zhang *et al.*, 2021). Tento proces se nazývá hnědnutí (*browning*) adipocytů, kdy dochází ke vzniku takzvaných béžových adipocytů (Obr. 1). Diferenciace může být spuštěna různými fyziologickými podněty. Příkladem je vystavení se chladu (Qiu *et al.*, 2014), nebo vytrvalostním cvičením (Tanimura *et al.*, 2022). Dochází tak k uvolňování katecholaminů ze sympatických nervů, následně ke stimulaci β 3-adrenergního receptoru na plazmatické membráně adipocytů a s ním spřažené intracelulární signalizace. Studie ukazují, že podnítit hnědnutí lze také obohacením stravy o specifické látky jako např. resveratrolem (Wang *et al.*, 2015), berberinem (Zhang *et al.*, 2014) nebo kapsaicinem (Baskaran *et al.*, 2016), které se přirozeně vyskytují v některých rostlinách. Mezi další faktory ovlivňující hnědnutí patří i mikrobiota ve střevech (Suárez-Zamorano *et al.*, 2015). Na myším modelu bylo dokázáno, že

po zavedení kalorické restrikce (snížení energetického příjmu) na 40 %, bylo po týdnu při této dietě u myši pozorováno hnědnutí WAT, přičemž nejvyšších hodnot dosáhlo po čtyřech týdnech (Fabbiano *et al.*, 2016). Tyto výsledky naznačují, že běžový tuk je rozvíjen v podmínkách negativní energetické bilance. Hnědnutí WAT by mohlo mít významnou roli při léčbě těchto onemocnění. Ve studii, zabývající se mechanismem působení hormonu FGF21 v léčbě diabetických myši, bylo poukázáno na zmírnění tohoto onemocnění díky zvýšenému vychytávání glukózy hnědou i nově vzniklou běžovou tukovou tkání (Emanuelli *et al.*, 2014).

Tukové buňky jsou specializované buňky tvořící základní jednotku tukové tkáně. U každého jedince se velikost adipocytů výrazně liší v závislosti na celkové hmotnosti jedince. Rozdíly v morfologii jsou způsobeny dvěma procesy, a to buď zvětšováním velikosti adipocytů jako důsledek ukládání tuků uvnitř buňky (hypertrofie adipocytů), nebo tvorbou nových adipocytů (hyperplazie či diferenciace adipocytů z prekurzorů buněk). Jejich velikost se pohybuje přibližně od 30 do 130 μm v průměru (Sato *et al.*, 2005). Obnova tukové tkáně, respektive tvorba nových adipocytů, je u člověka vysoká – ročně se obnovuje přibližně 10 % u všech věkových kategorií dospělých lidí nezávisle na hmotnosti a pohlaví (Arner *et al.*, 2010). Staré buňky podléhají buněčné smrti, nové vznikají prostřednictvím adipogeneze. Osoby s hypertrofickou tukovou tkání vytváří o 70 % méně adipocytů ročně v porovnání s osobami s hyperplazickou tukovou tkání (Arner *et al.*, 2010). Snížená, nedostatečná produkce nových adipocytů způsobuje zvýšenou potřebu akumulovat lipidy již existujícími adipocyty, čímž dochází k dramatickému nárůstu objemu adipocytů. Naopak u hyperplazie dochází k produkci nadměrného množství nových adipocytů obsahující malé lipidové kapénky. Ve výsledku může vést hypertrofie i hyperplazie ke shodnému objemu lipidů v těle a k obezitě. Rozdílná morfologie adipocytů však nemá podle studie vliv na stáří buněk a na relativní míru odumírání samotných adipocytů (Arner *et al.*, 2010).

3. Vápník v buněčné signalizaci

Vápník je biogenní prvek zásadní pro život organismů. Podílí se na tvorbě a stabilizaci kostí a zubů, funkci svalů a hemokoagulaci. Přestavuje i nezbytnou molekulu na buněčné úrovni, kde je součástí mnohých kofaktorů, podílí se na udržování membránového potenciálu buňky a především sehrává významnou roli jako signální transduktor. Na celkové tělesné hmotnosti má vápník podíl okolo 1,5 %. Z toho asi 99 % vápníku je uloženo právě v kostech a v zubech ve formě fosforečnanu vápenatého. Zbýlé 1 % se nachází v extracelulárním a intracelulárním prostředí, kde je buď ionizovaný, vázaný na bílkoviny, nebo komplexně vázaný (Pozzan *et al.*, 1994). Vápník se nejčastěji vyskytuje ve formě iontů Ca^{2+} , což je biologicky aktivní forma schopná difundovat skrze buněčné membrány. V cytosolu buněk je udržován vysoký rozdíl koncentrace vápníku vůči okolí. V extracelulárním prostředí se koncentrace pohybuje v milimolech, zatímco v intracelulárním

prostředí je koncentrace vápníku až desetitisíckrát nižší. Vápník je skladován i v některých buněčných organelách především v endoplazmatickém retikulu a mitochondriích (Pozzan *et al.*, 1994). Díky vysokému rozdílu gradientu je docíleno rychlé a účinné signalizace.

Obecně se vápník může dostat z extracelulárního prostředí do cytoplazmy dvěma způsoby. První možností je průchod Ca^{2+} přes napětově řízené vápníkové kanály (VGCC) (Fatt & Ginsborg, 1958), druhou možností je aktivace přechodných receptorových potenciálových kanálů (Phillips *et al.*, 1992). Další možností je využití zmíněných buněčných zásob Ca^{2+} z endoplazmatického retikula nebo mitochondrií. Takto uvolněný Ca^{2+} se v buňce váže na své příslušné efekторы, čímž způsobuje změnu konformace i náboje daného proteinu, a dochází ke změně interakcí a přenosu signálu. Významným vápníkovým efektořem je kalmodulin, který v komplexu s Ca^{2+} dokáže aktivovat další proteiny jako Ca^{2+} /kalmodulin dependentní protein kináza kinázy (CAMKK2), která dále fosforyluje své substráty v závislosti na typu buňky a povaze původního stimulu (Zhang *et al.*, 1995). Například bylo publikováno, že v bílých tukových buňkách se CAMKK2 negativně podílí na diferenciaci pre-adipocytárních progenitorů v dospělé adipocyty a akutní inhibice této kinázy akceleruje diferenciaci buněk ve zralé adipocyty a vede k vyčerpání progenitorového depa (Lin *et al.*, 2011). Pro následné zachování Ca^{2+} homeostázy v cytosolu buněk je nutné ionty aktivně vychytávat zpět do extracelulárního nebo zásobního prostředí. Děje se tak pomocí Ca^{2+} -ATPázových pump, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ výměníků nebo sarco/endoplazmatickou retikulární Ca^{2+} -ATPázovou pumpou.

4. Napětově řízené vápníkové kanály

Cytoplazmatická membrána je semipermeabilní – volně propouští pouze malé nenabitě částice. Vápník nese kladný náboj a je příliš velký, než aby byl schopen procházet prostou difúzí přes fosfolipidovou vrstvu, proto je nutné využít k transportu kanály nebo pumpy. VGCC byl poprvé popsán při studii svalů korýšů Paulem Fattem a Bernardem Katzem (Fatt & Ginsborg, 1958). V roce 1984 byl publikován výzkum na senzorických neuronech kuřat a potkanů, kde byl objeven nový typ vápenatého kanálu, který měl odlišnou vodivost, délku otevírání a proud – při membránovém potenciálu mezi -50 a +10 mV se kanál otevíral kolem 3-6 ms (Carbone & Lux, 1984). Díky tomu došlo k rozdělení na kanály aktivované nízkým a vysokým napětím (LVA a HVA). Tentýž rok byl nalezen typ kanálu zodpovědný za svalový stah v buňkách myokardu morčat a žab, který byl charakteristický dlouhotrvajícím otevřením a velmi krátkým uzavřením – tento kanál byl označen jako L-typ (Hess *et al.*, 1984). Dnes známe pět hlavních typů VGCC: L-typ, P/Q-typ, N-typ, T-typ a R-typ.

4.1. VGCC kanály aktivovány nízkým napětím

Mezi LVA patří pouze kanály typu T, které jsou aktivovány při napětí okolo -50 mV (Louhivuori *et al.*, 2013), tedy ne o moc vyšším, než je klidový membránový potenciál. Jejich proud má typickou pomalou napěťově závislou aktivaci a poté téměř úplnou inaktivaci. Kanály typu T jsou exprimovány po celém těle ve třech různých typech označovaných jako $Ca_v3.1$, $Ca_v3.2$ a $Ca_v3.3$ (Barghouth *et al.*, 2022; El-Rahman *et al.*, 2013; Talley *et al.*, 1999). Fyziologicky významný vliv mají například na kardiovaskulární systém (Chevalier *et al.*, 2014; Mangoni *et al.*, 2006). Podílí se na udržování srdeční automatiky, zachovávání koronárního a periferního vazomotorického tonu a řízení remodelace vaskulárního systému (Cazade *et al.*, 2014; Mangoni *et al.*, 2006). Zároveň jsou spojeny také s některými kardiovaskulárními nemocemi jako hypertenze, kde přispívají ke kontrakcím tepen hypertoniků (Thuesen *et al.*, 2017). Podle výsledků experimentu na krysách a myších léčba TTA-A2 – blokátorem T typu VGCC – zabránila vaskulární hyperreaktivitě a hypertrofii pravé srdeční komory a dalším projevům při onemocnění plicní hypertenze. Blokátory T kanálů by se tak mohly stát terapeutickým prostředkem pro plicní hypertenzi (Chevalier *et al.*, 2014). Další zajímavou vlastností T kanálů je jejich role v nocicepci (Todorovic *et al.*, 2001). Po umlčení genu pro $Ca_v3.2$ u potkanů byly prokázány účinky u akutních i neuropatických stavů a přímý vliv kanálů na vnímání bolesti. Ve srovnání s jinými kanály měla léčba zacílená na $Ca_v3.2$ u potkanů výrazné účinky na zmírnění bolesti (Bourinet *et al.*, 2005).

4.2. VGCC kanály aktivovány vysokým napětím

Mezi HVA patří kanály typu L, N, P/Q a R. Kanály typu L jsou přítomné ve všech buňkách. Jsou děleny do čtyř podtypů označovaných $Ca_v1.1$ až $Ca_v1.4$. Důležitou roli mají v kosterním svalstvu, kde zprostředkovávají přenos vzruchu a umožňují svalovou kontrakci (Nakada *et al.*, 2018). Kanály L jsou také zodpovědné za správnou funkci srdce. Podílí se na kontrakci myokardu, umožňují plató efekt, tedy prodloužený akční potenciál, a následně přispívají k repolarizaci vedoucí k relaxaci srdce. Řídí správnou dynamiku srdce, a naopak při patologické funkci vedou k arytmií (Mahajan *et al.*, 2008).

Kanály P/Q jsou u savců vysoce exprimovány v mozečku, mozkové kůře a hipokampu. Poprvé byly identifikovány díky blokátoru z pavoučího toxinu v Purkyňových buňkách a od toho bylo odvozeno označení písmenem P (Llinás *et al.*, 1989). Dnes je používáno také označení $Ca_v2.1$. Jejich role spočívá v rychlém synaptickém přenosu na centrálních a periferních nervových zakončeních. Při jejich špatném fungování dochází často k neurologickým onemocněním. V raných fázích Alzheimerovy choroby se objevuje toxický β -amyloidní oligomer, který moduluje pór P/Q kanálu, který následně zvýší svou aktivitu. Tím dochází ke změně proudu vápníku a spouští se vylévání neurotransmiterů a kaskád, které přispívají k excitotoxicitě buněk mozku a rozvoji choroby (Mezler *et al.*, 2012). Při mutacích v genech pro P/Q kanály dochází například k familiární hemiplegické migréně

(Cao & Tsien, 2005), u myšího modelu ke zvýšení náchylnosti k záchvatům a rozvoji epilepsie (Fletcher *et al.*, 1996).

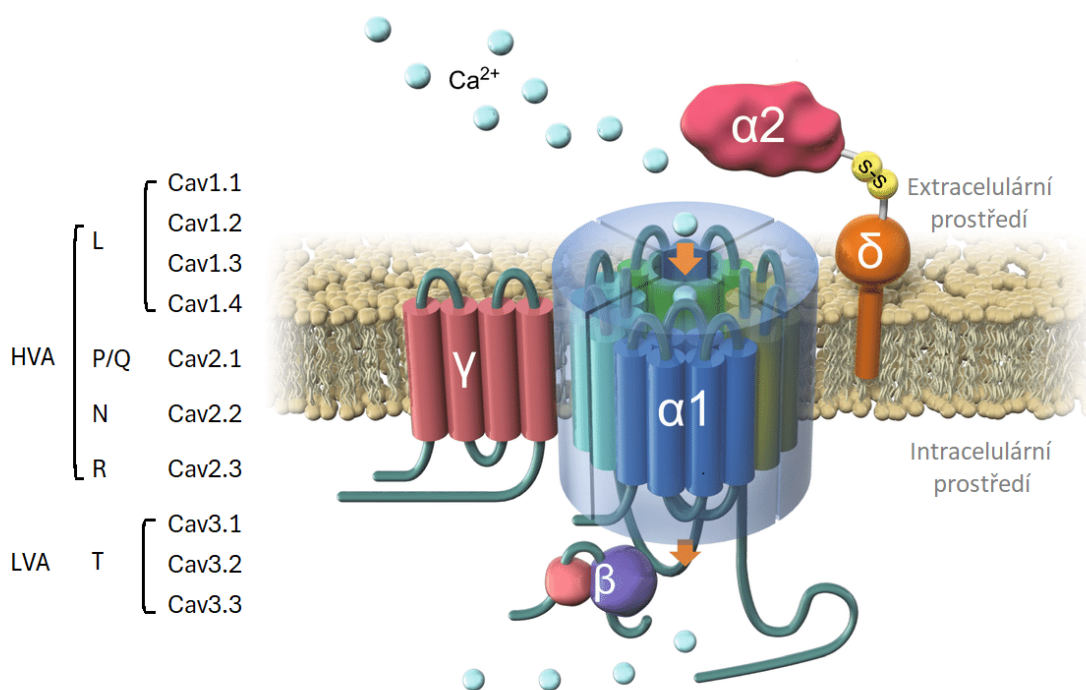
Vápníkové kanály typu N můžeme najít například v mozku, kde uvolňují neurotransmitery, dále řídí migraci nezralých neuronů před vytvořením jejich synaptických okruhů (Komuro & Rakic, 1992). Jsou označovány jako Ca_v2.2. Svou roli hrají i při bolesti, podílí se na hypersenzitivní bolesti vyvolané zánětem či zvýšenou teplotou (Pitake *et al.*, 2019). Při hledání možností zmírnění stavu neuropatie byly v jedné ze studií využity blokátory Ca_v2.2 (topiramát a zonisamid), díky kterým došlo k poklesu prozánětlivých cytokinů, jako je TNF- α , a ke zvýšení hladin glutathionu, kataláz a nárůstu antioxidantních procesů (Upasani & Sherikar, 2023). Po této léčbě vykazovaly krysy *Albino Wistar* normální stav nervu bez známek neuropatie.

Kanály typu R byly delší dobu méně prozkoumávány kvůli jejich necitlivosti na testované farmakologické blokátory. Díky tomu také dostaly svůj název – rezistentní či reziduální. To změnil objev SNX 482, peptidu o velikosti 42 aminokyselin v jedu tarantule *Hysteroocrates gigas*. Při nízkých nanomolárních koncentracích SNX 482 byly selektivně blokovány právě kanály typu R (Newcomb *et al.*, 1998). Dnes víme, že zmíněné kanály například uvolňují neurotransmitery, napomáhají rychlému přenosu glutamatergního přenosu v hipokampálních synapsích, což bylo dokázáno za využití selektivního antagonisty peptidového toxinu SNX 482 a nízkých koncentrací NiCl₂ (Gasparini *et al.*, 2001).

4.3. Struktura VGCC

VGCC se nachází v plazmatické membráně prakticky všech typů buněk. Jejich struktura je poměrně konzervovaná s určitou podobností rodinám Na⁺ a K⁺ iontových kanálů. Jedná se o heteromerní komplex s několika podjednotkami (Obr. 2). Samotný pór skrz membránu vytváří podjednotka $\alpha 1$. Jde o jeden transmembránový polypeptidový řetězec o velikost zhruba 2000 aminokyselinových zbytků, který se skládá ze čtyř homologicky opakujících se domén (Wu *et al.*, 2015). Každá doména je složena z šesti segmentů označovaných jako S1 – S6. S1 až S4 v každém opakování tvoří část snímající napětí, zatímco S5 a S6 ze čtyř domén tvoří pórovou strukturu. Segmenty S6, hlavní kostra vnitřního póru, jsou sice homologní, ale jsou tvořeny z neidentických repetit. Aminokyselinové sekvence vnitřního póru jsou tudíž asymetrické a funkčně neekvivalentní, což ovlivňuje odlišnou funkčnost, pokud dojde k mutacím jednotlivých S6 segmentů. Lišit se mohou i svou vertikální polohou či orientací (Zhen *et al.*, 2005). Podle měření na kanálu typu P/Q je vnitřní kanál schopen otevřít se na velikost větší než 10 Å, což odpovídá 1 nm (Zhen *et al.*, 2005). Mezi další struktury $\alpha 1$ patří extracelulární smyčky, které narušují symetrii kanálu (Wu *et al.*, 2015). Na smyčce

mezi první a druhou doménou – I-II loop – je lokalizována α -interakční doména. Podjednotka $\alpha 1$ snímá napětí a umožňuje vazbu s dalšími podjednotkami, kterými jsou β , $\alpha 2\delta$ a γ .



Typ kanálu	L	N	P	Q	R	T
Vodivost	25 pS	11-20 pS	9,14,19 pS	15-16 pS	15-20 pS	8 pS
Aktivační potenciál	-10 až -50 mV	-20 mV	-50 mV	-50 mV?	-25 až -40 mV	-70 mV
Inaktivační kinetika	Pomalá	Střední	Velmi pomalá	Střední	Velmi rychlá	Rychlá

Obr. 2 **Struktura a přehled vlastností jednotlivých typů VGCC.** Použité zkratky HVA, high voltage activated; LVA, low voltage activated; (převzato a upraveno z Gurkoff *et al.*, 2013; Ninomiya *et al.*, 2020).

β podjednotka je hydrofilní protein lokalizován intracelulárně. Na kanálech typu L ze savčích buněk bylo prokázáno, že podjednotka β hraje roli při tvorbě, stabilizaci a modulaci kanálového komplexu (Chien *et al.*, 1995). Expres podjednotky β podporuje výskyt podjednotky $\alpha 1$ v plazmatické membráně, naopak v nepřítomnosti β podjednotky byly často $\alpha 1$ podjednotky lokalizovány intracelulárně, a tak byl tok Ca^{2+} mnohem menší (Chien *et al.*, 1995). Tyto výsledky podporují hypotézu, že tvorba velkého počtu funkčních kanálů je omezena počtem kopií β podjednotky. Je tedy možné, že vzájemná interakce napomáhá začlenění $\alpha 1$ podjednotky do membrány. β podjednotka je složena ze dvou skládaných domén se sekundární strukturou z helixů a listů. N-konec, C-konec a linker β domény umožňují interakce s povrchem $\alpha 1$. Ostatní části udržují stabilitu a jsou klíčové pro funkci β podjednotky (Opatowsky *et al.*, 2003).

Podjednotka $\alpha 2$ je glykoprotein o velikosti okolo 150 kDa. Obsahuje zhruba 25 % sacharidů vázaných přes dusík. Za přirozených podmínek je $\alpha 2$ podjednotka vázaná disulfidickou vazbou

k podjednotce δ , což je rovněž glykoprotein o velikosti kolem 20 kDa (Takahashi *et al.*, 1987). Podjednotky $\alpha 2$ a δ pochází ze stejného prekurzoru, tedy jsou kódovány stejným genem, který je sestříhán do více finálních produktů. Podjednotka $\alpha 2$ zabírá velkou část genu, zatímco podjednotka δ se nachází na C terminálním konci prekurzoru a je dále posttranslačně štěpena. Pro $\alpha 2\delta$ existují čtyři typy genů – $\alpha 2\delta$ -1, $\alpha 2\delta$ -2, $\alpha 2\delta$ -3 a $\alpha 2\delta$ -4. Každý typ má svou charakteristickou lokalizaci a podle nových poznatků by mohly mít své charakteristické funkce. Například $\alpha 2\delta$ -1 nacházíme ve všech typech svalové tkáně, v centrální i periferní nervové soustavě a v endokrinních tkáních. V CNS se nachází v oblastech mozku, které jsou zásadní pro paměť, učení, obranné chování, neuroendokrinní sekreci, primární sensorické zpracování a další (Cole *et al.*, 2005). $\alpha 2\delta$ -2 můžeme najít v mozku v oblastech spojených s čichem, somaticko-motorickou kontrolou či homeostázou tekutin (Cole *et al.*, 2005). $\alpha 2\delta$ -3 nacházíme v centrální i periferní nervové soustavě a $\alpha 2\delta$ -4 v sítnici a endokrinních tkáních. Podjednotky $\alpha 2\delta$ -1 – $\alpha 2\delta$ -3 jsou k membráně připojeny pomocí glykosylfosfatidylinositolové (GPI) kotvy a je velmi pravděpodobné, že tomu tak bude i u podjednotky $\alpha 2\delta$ -4 (Davies *et al.*, 2010). Podobně jako ostatní GPI kotvy mají C-terminální hydrofobní doménu s proliny v blízkosti a velmi malou cytoplazmatickou doménu. K ukotvení GPI pravděpodobně dochází ještě před proteolytickým štěpením na $\alpha 2$ a δ (Davies *et al.*, 2010). V důsledku toho může $\alpha 2\delta$ usměrňovat lokalizaci ostatních interagujících proteinů, včetně $\alpha 1$ podjednotky do specifických domén. Také by mohlo docházet k dynamickému vylučování $\alpha 2\delta$ z plazmatické membrány působením extracelulárních enzymů, což by mohlo vést k akutní změně funkce vápníkových kanálů (Davies *et al.*, 2010). Celkově se komplex $\alpha 2\delta$ podílí na funkční regulaci vápníkových kanálů. Pro odhalení funkce byly zároveň koexprimovány klonované $\alpha 2\delta$ s $\alpha 1$ podjednotkami. Díky tomu bylo možné odhalit jejich přímý vliv na vápníkový kanál. Vlivem $\alpha 2\delta$ bylo pozorováno zvýšení makroskopické amplitudy proudu a hyperpolarizační posun v aktivaci a inaktivaci v ustáleném stavu (Felix *et al.*, 1997). Tyto vlastnosti se mohou měnit v závislosti na typu $\alpha 1$ podjednotky, se kterou $\alpha 2\delta$ interaguje.

Poslední podjednotkou je podjednotka γ , která je ze všech nejméně prozkoumána. Její velikost odpovídá přibližně 30 kDa (Takahashi *et al.*, 1987). Jedná se o osmičlennou skupinu proteinů, které lze na základě sekvenční homologie a chromozomální vazby dále dělit do tří skupin. Tato podjednotka má intracelulární N-konec a C-konec a čtyři transmembránové domény (Guan *et al.*, 2016). Přestože je prozatím kolem γ podjednotky stále mnoho otázek, zdá se, že i tato podjednotka by mohla mít důležitou roli pro léčbu některých onemocnění. Například souvislost mezi γ podjednotkou a schizofrenií byla prokázána při studii 10 039 dobrovolníků. Výsledky naznačují, že geny pro $\gamma 4$, $\gamma 5$, $\gamma 6$ a $\gamma 8$ přispívají ke zvýšenému riziku onemocnění schizofrenií (Guan *et al.*, 2016).

5. Úloha VGCC v adipocytech

Po objevení metabolické a endokrinní funkce tukové tkáně a propojení její patofyziologie s rozvojem metabolických poruch jako je dyslipidemie, steatohepatitida nebo diabetes mellitus II. typu, se adipocyty staly středem zájmu současného výzkumu. Cílem mnohých vědeckých studií je popsat a pochopit molekulární mechanismy, které jsou zodpovědné za poruchy v regulaci metabolismu a funkčních vlastností adipocytů, které dále negativně ovlivňují celé tělo. Jedním ze zajímavých a významných kandidátů se ukazuje být vápník. Jeho vliv se odráží ve stěžejních buněčných procesech adipocytů, jako je diferenciaci, lipolýza, lipogeneze, sekrece adipokinu (Izawa *et al.*, 1983; Lin *et al.*, 2011). Také je dokázáno, že přispívá k rozvoji patologických stavů jako hyperlipidémie či inzulínová rezistence (Jang *et al.*, 2004). I přestože je tuková tkáň považována za neexcitabilní tkáň, byla překvapivě prokázána exprese i aktivace VGCC v plazmatické membráně adipocytů (Pershadsingh *et al.*, 1989). Aktuální vědecké bádání směřuje k identifikaci konkrétních VGCC typů a popsáním jejich funkce ve fyziologii adipocytů. Například v nedávné studii na bílých adipocytech izolovaných z tukových polštářků dospělých potkanů byly na úrovni genové exprese detekovány kanály typu L, konkrétně podtypy $Ca_v1.1$, $Ca_v1.2$ a $Ca_v1.3$. Na úrovni proteinů byly pak potvrzeny v plazmatické membráně pouze $Ca_v1.3$ a $Ca_v1.2$ a $Ca_v1.2$ byl pozorován především na membráně v blízkosti jádra pomocí konfokální mikroskopie (Fedorenko *et al.*, 2020). Při následném sledování intracelulární koncentrace Ca^{2+} bylo zjištěno, že proudy iontů Ca^{2+} jsou řízeny hlavně kanály typu L v plazmatické membráně adipocytů. Podle výsledků se zdá, že jsou kanály L konstitutivně otevřeny a udržují bazální Ca^{2+} intracelulární proudění. Konkrétně pak podtyp $Ca_v1.2$ by mohl být podle této studie terapeutickým cílem pro léčbu obezity (Fedorenko *et al.*, 2020).

V membráně adipocytů nacházíme i kanály typu T. Podáváním TTA-A2 specifického blokátoru kanálů typu T myším došlo k úbytku hmotnosti tukové tkáně a zároveň blokátor zabránil přírůstkem tělesné hmotnosti indukovanou stravou s vysokým obsahem tuku. U těchto myší byl zároveň zaznamenán nárůst svalové hmoty. Podle výsledků studie by tak antagonist kanálu T mohl umožnit zlepšení poměru tukové a netukové tkáně a potenciálně se tak stát dalším možným lékem na obezitu (Uebele *et al.*, 2009). U myší s deficitem kanálu typu T se oproti *wildtype* myším nezvyšovala tělesná hmotnost. Kanál se pravděpodobně podílí na hypertrofii a hyperplázii adipocytů. Navíc nebyly u myší s deficitem kanálu pozorovány tak výrazné vaskulární změny, které jindy doprovází obezitu (Rosenstand *et al.*, 2020).

Zastoupení VGCC v membráně adipocytu se může lišit v závislosti na věku a pohlaví daného jedince (Meng *et al.*, 2024). Na adipocytech izolovaných z tuku potkanů byla měřena exprese VGCC. Využitím metody kvantitativní polymerázové řetězové reakce byl naměřen jako převládající kanál $Ca_v1.2$, na druhém místě pak kanál $Ca_v1.3$. Kanály $Ca_v2.1$, $Ca_v2.3$, $Ca_v3.1$, $Ca_v3.2$ a $Ca_v3.3$ byly exprimovány na podobné úrovni (Meng *et al.*, 2024). V rámci této studie byly také porovnávány

tukové tkáni různě starých jedinců samic a samců. Genová exprese $Ca_v1.2$ a $Ca_v1.3$ studovaných ložisek tukové tkáni nepotvrdila rozdílnou expresi mezi mláďaty a dospělými. Nicméně exprese $Ca_v3.1$ ukázala změnu a v závislosti na dimorfismu se s pubertou u samců snížila, zatímco u samic se začala zvyšovat. Kanál $Ca_v3.1$ se zdá být více významný u dospělých samic (Meng *et al.*, 2024) a nárůst jeho exprese je pravděpodobně vyvolán estrogeny (J. Qiu *et al.*, 2006). Podobné změny exprese VGCC kanálů můžeme vidět i v rámci životního cyklu samotného adipocytu. Kanál typu T, konkrétně $Ca_v3.1$, byl dominantním VGCC u buněčných kultur myších preadipocytů. Nicméně u maturovaných adipocytů byla jeho exprese postupně snížena. Tyto výsledky naznačují, že kanál typu T má významnou roli v proliferaci, což je důležitý krok ve vývoji tukové tkáni a potenciálně i rozvoji hyperplasie a tím obezity (Oguri *et al.*, 2010).

V membránách kmenových buněk potkaních adipocytů byly za využití nesespecifických blokátorů HVA Ca^{2+} kanálů a nesespecifických blokátorů LVA Ca^{2+} kanálů zcela zastaveny přechodné jevy po dobu 5 minut (Forostyak *et al.*, 2016). Pro určení konkrétních typů kanálů byly kmenovým buňkám adipocytů podány specifické blokátory a po promytí byly vystaveny vysoké hladině K^+ . Blokátor L kanálů nikardipin blokoval odpověď u několika bazálních kmenových buněk. U středně modifikovaných byla blokáce mnohem výraznější. Podobně tomu bylo u blokátoru kanálů typu P/Q ω -konotoxin MVIIC. To dokazuje, že v kmenových buňkách adipocytů se nachází i kanály typu P/Q. Oproti tomu na blokátor kanálů typu N nebyla zaznamenána žádná odpověď, což naznačuje, že se tento typ VGCC v kmenových buňkách adipocytů nevyskytuje (Forostyak *et al.*, 2016). Jiná studie naopak popisuje přítomnost kanálu typu N v maturovaných myších adipocytech (Ueno *et al.*, 2013). Léčbou byla u myši regulována hladina adipokinu, konkrétně adiponektinu, který urychluje signalizaci inzulinu a vychytávání glukózy v játrech a kosterních svalech (Yamauchi *et al.*, 2002). Blokátor obou kanálů L a N cilnidipin ovlivnil hladinu adiponektinu, kdežto specifický blokátor kanálu typu L nikardipin nevedl k žádným významným změnám. Autoři studie se domnívají, že právě kanál typu N je zodpovědný za regulaci adiponektinu (Ueno *et al.*, 2013).

Při poklesu cytosolického vápníku dochází zpravidla ke zvyšování tělesné hmotnosti. Naopak při vyšší hladině je snížena akumulace triacylglycerolů. Ve studii, ve které kultivovali adipocyty v médiu bez vápníku, adipocyty reagovaly navýšením intracelulárního vápníku z vlastních zásob Ca^{2+} . Adipocyty byly schopny stejně reagovat i v případě, že byly médiu bez Ca^{2+} vystaveny podruhé (Turovsky *et al.*, 2021). Existují hypotézy, kdy snížení příjmu vápníku v potravě způsobí nárůst tukové tkáni a tělesné hmotnosti v důsledku paradoxního navýšení Ca^{2+} hladiny v cytoplazmě. Je tedy možné, že by zvýšená konzumace vápníku mohla pomoci při regulaci množství tukové hmoty a zároveň prospěšně snižovat krevní tlak (Zemel, 2001). Ke stejnému závěru došla i studie na myších a pacientech, kde rovněž strava s vyšším obsahem vápníku vedla ke snížení Ca^{2+} v adipocytech a snížení rizika obezity (Zemel *et al.*, 2000).

Při lipolýze dochází k odbourávání lipidů v adipocytech a uvolňování mastných kyselin a glycerolu. Jisté úlohy vápníku si všimají výzkumy zaměřené na regulaci lipolýzy v adipocytech. V buňkách byla za pomoci epinefrinu stimulovaná lipolýza. Následně do inkubačního média nebyly přidány Ca^{2+} ionty. To mělo za následek utlumení lipolýzy. V případě využití kofeinu pro navození lipolýzy byla po odebrání Ca^{2+} z média potlačena ještě výrazněji. Byl proveden i experiment, kdy do tukové tkáně s potlačenou lipolýzou a nedostatkem Ca^{2+} bylo dodáno 0,75 mM Ca^{2+} , čímž došlo k opětovnému nastartování lipolýzy (Izawa *et al.*, 1983). Navýšení intracelulární hladiny vápníku v lidských adipocytech bylo v jiném případě docíleno využitím lidského rekombinantního homologu genu *aguti*, který je primárně exprimován v adipocytech. Příliv vápníku měl antilipolytický účinek. Při aplikaci VGCC blokátoru nitrendipinu byl tento účinek blokován (Xue *et al.*, 1998). Z těchto dat vyplývá, že gen *aguti* ovlivňuje lipolýzu prostřednictvím signální dráhy vápníku závislé na VGCC.

Inzulín je produkován β buňkami pankreatu. Ovlivňuje játra, příčně pruhovanou svalovinu i tukovou tkáň. Po vazbě na svůj receptor spouští v buňkách signální kaskádu, která způsobuje proteosyntézu, lipogenezi a glykogenezi. Bylo zjištěno, že na účinnost inzulínu v adipocytech má vliv koncentrace vápenatých iontů. V případě snížení extracelulárního Ca^{2+} byl účinek inzulínu významně snížen. U koncentrace intracelulárního Ca^{2+} mezi 140 a 370 nM byla účinnost inzulínu nejvyšší (Draznin *et al.*, 1987). Ve chvíli, kdy buňky přestávají reagovat správně na inzulín, dochází k patologické inzulinové rezistenci, která vede ke snížení glukózy v krvi. K podobným závěrům došla také studie na izolovaných adipocytech se zvýšenou hladinou Ca^{2+} iontů. V důsledku nadbytečného Ca^{2+} došlo k inhibici fosfoserinfosfatázy, což je enzym důležitý pro správné fungování dráhy inzulínu, a vzniku inzulinové rezistence (Begum *et al.*, 1992). Tato inhibice způsobila i zvýšení aktivity adipocytu o 60 %. U potkanů s trvale vysokou hladinou Ca^{2+} v adipocytech byla rozvinuta inzulinová rezistence a hypertenze. Naopak po snížení koncentrace iontů došlo ke zmírnění obou patologických onemocnění (Jang *et al.*, 2004). Poměr inzulínu a glukagonu v krvi ovlivňuje glykogenezi, tedy proces syntézy glykogenu. Glykogen je polysacharid tvořený četnými glukózami, což je jeden z nejvýznamnějších monosacharidů organismu. Buňky ji využívají jako zdroj energie, kdy je přeměňována mimo jiné na molekuly ATP. Je významná pro homeostázu celého těla a adaptaci na metabolické stresy (Gary J. Litherland, 2001). Jeden z mechanismů příjmu glukózy buňkami je inzulímem stimulované vychytávání glukózy v adipocytech. Existuje stále více důkazů, že na tuto transportní dráhu má vliv koncentrace vápníku. U adipocytů 3T3-L1 bylo detekováno velmi nízké množství transportérů pro glukózu typu GLUT4. Dodáním inzulínu byl jejich počet navýšen přibližně pětikrát. Následně byla v experimentu snížena hladina intracelulárního Ca^{2+} , což vedlo k 50% snížení translokace GLUT4 transportérů do plazmatické membrány (Whitehead *et al.*, 2001). Dalším krokem, který patrně ovlivňuje hladina vápníku v této dráze, je fúze váček. Podle dat zůstávají váčky s GLUT4 navázány na plazmatické membráně, ale nedochází k fúzi váček (Whitehead *et al.*, 2001). Hypotézu o vlivu vápníku na metabolismus glukózy podporují i další studie i na odlišných buňkách. K inhibici

inzulínem stimulovaného transportu glukózy došlo při využití verapamilu, blokátoru vápníkového kanálu typu L, v kosterních svalových buňkách (Cartee *et al.*, 1992).

Změny chování adipocytů bílé tukové tkáně v reakci na Ca^{2+} je možné vidět i v procesu adipogeneze. Adipogenní kmenové buňky byly odebrány čtyřem mladým ženám. Buňky byly inkubovány po dobu tří dnů. Porovnávány byly tři experimentální skupiny: kontrolní buňky, buňky s přidaným 2,5 mM Ca^{2+} a buňky, kterým bylo podáváno 1,8 mM Ca^{2+} + ionofor. Po uplynulé době proběhly největší morfologické změny v kontrolní skupině buněk, které měly nejvíce kulovitý tvar. Vzorky byly dále obarveny olejovou červení O pro zviditelnění triacylglycerolů. Největší množství lipidových kapének se ukázalo u kontrolních buněk, druhé v pořadí byly pak buňky s 2,5 mM Ca^{2+} . Tyto data potvrzují inhibiční účinek Ca^{2+} na diferenciaci adipocytů (Goudarzi *et al.*, 2018). V jiné studii byly prekurzory adipocytů ponechány v diferenciacích médiích s koncentrací Ca^{2+} o 1,8 mM; 5,4 mM a 10,8 mM po dobu čtrnácti dní. Buňky s koncentrací 10,8 mM Ca^{2+} v médiu vykazovaly výrazné zvýšení jednak v počtu buněk a rovněž nejvyšší aktivitu akumulace lipidů a aktivitu enzymů pro syntézu lipidů (Hashimoto *et al.*, 2012). Podáním blokátoru L typu VGCC nifedipinu došlo k zastavení přísunu Ca^{2+} z extracelulárního prostředí skrz tyto kanály. Po podání tohoto blokátoru kmenovým buňkám došlo ke snížení diferenciaci buněk v adipocyty (Zhang *et al.*, 2018). Kromě toho nifedipin způsobil zastavení podpory akumulace lipidů u myši. Je zřejmé, že kanál typu L se podílí na Ca^{2+} extracelulárně zprostředkované adipogenezi preadipocytů. Dodání Ca^{2+} iontů do extracelulárního prostředí má za následek vyšší průtok iontů kanálem do buňky a tím stimulaci adipogeneze. Shodný výsledek se ukázal i v případě diferenciaci lidských adipocytů (Zhang *et al.*, 2018).

6. Závěr

V této práci jsou shrnuty dosavadní poznatky o důležitosti napětím ovládaných vápníkových kanálů a s nimi spojených vápníkových signálních drah s podrobnějším zaměřením na jejich funkci v adipocytech. Z této práce vyplývá, že vápník významně ovlivňuje adipocyty od jejich zrání až po jejich správnou funkci u zcela diferenciovaných buněk. Reguluje ukládání tukových zásob skrze změny v lipolýze a lipogenezi. Reguluje homeostázu glukózy, kde ovlivňuje jednak glykogenezi samotnou, ale také nepřímo, kdy modifikuje buněčnou odpověď na inzulín. Ovlivňuje endokrinní funkci adipocytů, kdy sekretované adipokiny vyvolávají reakce dalších buněk a orgánů, čímž pomáhají udržet celkovou homeostázi těla. Pokud dojde k nesprávnému fungování VGCC, rozvíjí se mnohá onemocnění, často i život ohrožující. Proto je zde nastíněna i důležitost vápníkových kanálů z pohledu patofyziologie. V dnešní době narůstá četnost onemocnění souvisejících s tukovou tkání, jako je obezita, diabetes mellitus II. typu, hypertenze, inzulínová rezistence a mnohá další. Studie vápníkových kanálů v adipocytech poskytují stále více důkazů, že při modifikaci VGCC je možné ovlivnit rozvoj onemocnění, a proto se vápníkové kanály nabízí jako možný terapeutický cíl pro jejich léčbu. Vzhledem k tomu, že výzkumy na toto téma jsou poměrně nové a endokrinní funkce tukové tkáně byla objevena teprve v 90. letech minulého století, je pravděpodobné, že by další studie mohly přinést nové možnosti léčby těchto onemocnění a mnoho dalších poznatků o roli VGCC a adipocytů na celkovou homeostázu těla.

7. Reference

* - Sekundární zdroj

- Arner, E., Westermark, P. O., Spalding, K. L., Britton, T., Rydén, M., Frisén, J., Bernard, S., & Arner, P. (2010). Adipocyte Turnover: Relevance to Human Adipose Tissue Morphology. *Diabetes*, 59(1), 105–109. <https://doi.org/10.2337/db09-0942>
- Barghouth, M., Ye, Y., Karagiannopoulos, A., Ma, Y., Cowan, E., Wu, R., Eliasson, L., Renström, E., Luan, C., & Zhang, E. (2022). The T-type calcium channel CaV3.2 regulates insulin secretion in the pancreatic β -cell. *Cell Calcium*, 108, 102669. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2022.102669>
- Baskaran, P., Krishnan, V., Ren, J., & Thyagarajan, B. (2016). Capsaicin induces browning of white adipose tissue and counters obesity by activating TRPV1 channel-dependent mechanisms. *British Journal of Pharmacology*, 173(15), 2369–2389. <https://doi.org/10.1111/bph.13514>
- Begum, N., Sussman, K. E., & Draznin, B. (1992). Calcium-induced inhibition of phosphoserine phosphatase in insulin target cells is mediated by the phosphorylation and activation of inhibitor 1. *Journal of Biological Chemistry*, 267(9), 5959–5963. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)42648-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)42648-8)
- *Bourgeois, C., Gorwood, J., Barrail-Tran, A., Lagathu, C., Capeau, J., Desjardins, D., Le Grand, R., Damouche, A., Béréziat, V., & Lambotte, O. (2019). Specific Biological Features of Adipose Tissue, and Their Impact on HIV Persistence. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02837>
- Bourinet, E., Alloui, A., Monteil, A., Barrère, C., Couette, B., Poirot, O., Pages, A., McRory, J., Snutch, T. P., Eschalier, A., & Nargeot, J. (2005). Silencing of the Cav3.2 T-type calcium channel gene in sensory neurons demonstrates its major role in nociception. *The EMBO Journal*, 24(2), 315–324. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600515>
- Cao, Y.-Q., & Tsien, R. W. (2005). Effects of familial hemiplegic migraine type 1 mutations on neuronal P/Q-type Ca²⁺ channel activity and inhibitory synaptic transmission. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(7), 2590–2595. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409896102>
- Carbone, E., & Lux, H. D. (1984). A low voltage-activated, fully inactivating Ca channel in vertebrate sensory neurones. *Nature*, 310(5977), 501–502. <https://doi.org/10.1038/310501a0>
- Cartee, G. D., Briggs-Tung, C., & Holloszy, J. O. (1992). Diverse effects of calcium channel blockers on skeletal muscle glucose transport. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 263(1), R70–R75. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1992.263.1.R70>
- Cazade, M., Bidaud, I., Hansen, P. B., Lory, P., & Chemin, J. (2014). 5,6-EET potently inhibits T-type calcium channels: implication in the regulation of the vascular tone. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 466(9), 1759–1768. <https://doi.org/10.1007/s00424-013-1411-0>
- Chevalier, M., Gilbert, G., Roux, E., Lory, P., Marthan, R., Savineau, J.-P., & Quignard, J.-F. (2014). T-type calcium channels are involved in hypoxic pulmonary hypertension. *Cardiovascular Research*, 103(4), 597–606. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvu166>

- Chien, A. J., Zhao, X., Shirokov, R. E., Puri, T. S., Chang, C. F., Sun, D., Rios, E., & Hosey, M. M. (1995). Roles of a Membrane-localized β Subunit in the Formation and Targeting of Functional L-type Ca^{2+} Channels. *Journal of Biological Chemistry*, 270(50), 30036–30044. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.50.30036>
- Cole, R. L., Lechner, S. M., Williams, M. E., Prodanovich, P., Bleicher, L., Varney, M. A., & Gu, G. (2005). Differential distribution of voltage-gated calcium channel $\alpha_2\delta$ ($\alpha_2\delta$) subunit mRNA-containing cells in the rat central nervous system and the dorsal root ganglia. *Journal of Comparative Neurology*, 491(3), 246–269. <https://doi.org/10.1002/cne.20693>
- Cypess, A. M., Weiner, L. S., Roberts-Toler, C., Elía, E. F., Kessler, S. H., Kahn, P. A., English, J., Chatman, K., Trauger, S. A., Doria, A., & Kolodny, G. M. (2015). Activation of Human Brown Adipose Tissue by a β_3 -Adrenergic Receptor Agonist. *Cell Metabolism*, 21(1), 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.12.009>
- Davies, A., Kadurin, I., Alvarez-Laviada, A., Douglas, L., Nieto-Rostro, M., Bauer, C. S., Pratt, W. S., & Dolphin, A. C. (2010). The $\alpha_2\delta$ subunits of voltage-gated calcium channels form GPI-anchored proteins, a posttranslational modification essential for function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(4), 1654–1659. <https://doi.org/10.1073/pnas.0908735107>
- Draznin, B., Sussman, K., Kao, M., Lewis, D., & Sherman, N. (1987). The existence of an optimal range of cytosolic free calcium for insulin-stimulated glucose transport in rat adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 262(30), 14385–14388. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)47805-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)47805-2)
- El-Rahman, R. R. A., Harraz, O. F., Brett, S. E., Anfinogenova, Y., Mufti, R. E., Goldman, D., & Welsh, D. G. (2013). Identification of L- and T-type Ca^{2+} channels in rat cerebral arteries: role in myogenic tone development. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 304(1), H58–H71. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00476.2012>
- Emanuelli, B., Vienberg, S. G., Smyth, G., Cheng, C., Stanford, K. I., Arumugam, M., Michael, M. D., Adams, A. C., Kharitonov, A., & Kahn, C. R. (2014). Interplay between FGF21 and insulin action in the liver regulates metabolism. *Journal of Clinical Investigation*, 124(2), 515–527. <https://doi.org/10.1172/JCI67353>
- Fabbiano, S., Suárez-Zamorano, N., Rigo, D., Veyrat-Durebex, C., Stevanovic Dokic, A., Colin, D. J., & Trajkovski, M. (2016). Caloric Restriction Leads to Browning of White Adipose Tissue through Type 2 Immune Signaling. *Cell Metabolism*, 24(3), 434–446. <https://doi.org/10.1016/j.CMET.2016.07.023>
- Fatt, P., & Ginsborg, B. L. (1958a). The ionic requirements for the production of action potentials in crustacean muscle fibres. *The Journal of Physiology*, 142(3), 516–543. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1958.sp006034>
- Fedorenko, O. A., Pulbutr, P., Banke, E., Akaniro-Ejim, N. E., Bentley, D. C., Olofsson, C. S., Chan, S., & Smith, P. A. (2020). $\text{Ca}_v1.2$ and $\text{Ca}_v1.3$ voltage-gated L-type Ca^{2+} channels in rat white fat adipocytes. *Journal of Endocrinology*, 244(2), 369–381. <https://doi.org/10.1530/JOE-19-0493>
- Felix, R., Gurnett, C. A., De Waard, M., & Campbell, K. P. (1997). Dissection of Functional Domains of the Voltage-Dependent Ca^{2+} Channel $\alpha_2\delta$ Subunit. *The Journal of Neuroscience*, 17(18), 6884–6891. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-18-06884.1997>

- Fletcher, C. F., Lutz, C. M., O'Sullivan, T. N., Shaughnessy, J. D., Hawkes, R., Frankel, W. N., Copeland, N. G., & Jenkins, N. A. (1996). Absence Epilepsy in Tottering Mutant Mice Is Associated with Calcium Channel Defects. *Cell*, *87*(4), 607–617. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81381-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81381-1)
- Frostyayk, O., Butenko, O., Anderova, M., Frostyayk, S., Sykova, E., Verkhratsky, A., & Dayanithi, G. (2016). Specific profiles of ion channels and ionotropic receptors define adipose- and bone marrow derived stromal cells. *Stem Cell Research*, *16*(3), 622–634. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2016.03.010>
- Gary J. Litherland, E. H. H. (2001). Intracellular signalling mechanisms regulating glucose transport in insulin-sensitive tissues. *Molecular Membrane Biology*, *18*(3), 195–204. <https://doi.org/10.1080/09687680110076407>
- Gasparini, S., Kasyanov, A. M., Pietrobon, D., Voronin, L. L., & Cherubini, E. (2001). Presynaptic R-Type Calcium Channels Contribute to Fast Excitatory Synaptic Transmission in the Rat Hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, *21*(22), 8715–8721. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-22-08715.2001>
- Goudarzi, F., Mohammadalipour, A., Khodadadi, I., Karimi, S., Mostoli, R., Bahabadi, M., & Goodarzi, M. T. (2018). The Role of Calcium in Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells to Adipocytes. *Molecular Biotechnology*, *60*(4), 279–289. <https://doi.org/10.1007/s12033-018-0071-x>
- Guan, F., Zhang, T., Liu, X., Han, W., Lin, H., Li, L., Chen, G., & Li, T. (2016). Evaluation of voltage-dependent calcium channel γ gene families identified several novel potential susceptible genes to schizophrenia. *Scientific Reports*, *6*(1), 24914. <https://doi.org/10.1038/srep24914>
- *Gurkoff, G., Shahlaie, K., Lyeth, B., & Berman, R. (2013). Voltage-Gated Calcium Channel Antagonists and Traumatic Brain Injury. *Pharmaceuticals*, *6*(7), 788–812. <https://doi.org/10.3390/ph6070788>
- Hashimoto, R., Katoh, Y., Nakamura, K., Itoh, S., Iesaki, T., Daida, H., Nakazato, Y., & Okada, T. (2012). Enhanced accumulation of adipocytes in bone marrow stromal cells in the presence of increased extracellular and intracellular $[Ca^{2+}]$. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *423*(4), 672–678. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.06.010>
- Hess, P., Lansman, J. B., & Tsien, R. W. (1984). Different modes of Ca channel gating behaviour favoured by dihydropyridine Ca agonists and antagonists. *Nature*, *311*(5986), 538–544. <https://doi.org/10.1038/311538a0>
- Hotamisligil, G. S., Shargill, N. S., & Spiegelman, B. M. (1993). Adipose Expression of Tumor Necrosis Factor- α : Direct Role in Obesity-Linked Insulin Resistance. *Science*, *259*(5091), 87–91. <https://doi.org/10.1126/science.7678183>
- Izawa, T., Koshimizu, E., Komabayashi, T., & Tsuboi, M. (1983). [Effects of Ca^{2+} and calmodulin inhibitors on lipolysis induced by epinephrine, norepinephrine, caffeine and ACTH in rat epididymal adipose tissue]. *Nihon Seirigaku Zasshi. Journal of the Physiological Society of Japan*, *45*(1), 36–44.
- Jang, Y. J., Ryu, H. J., Choi, Y. O., Lee, J. G., Kim, C., Leem, C. H., & Park, C. S. (2004). Effects of an intracellular Ca^{2+} chelator on insulin resistance and hypertension in high-fat-fed rats and spontaneously hypertensive rats. *Metabolism*, *53*(3), 269–272. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2003.10.001>

- Johnson, J. M., Peterlin, A. D., Balderas, E., Sustarsic, E. G., Maschek, J. A., Lang, M. J., Jara-Ramos, A., Panic, V., Morgan, J. T., Villanueva, C. J., Sanchez, A., Rutter, J., Lodhi, I. J., Cox, J. E., Fisher-Wellman, K. H., Chaudhuri, D., Gerhart-Hines, Z., & Funai, K. (2023). Mitochondrial phosphatidylethanolamine modulates UCP1 to promote brown adipose thermogenesis. *Science Advances*, 9(8). <https://doi.org/10.1126/sciadv.ade7864>
- Komuro, H., & Rakic, P. (1992). Selective Role of N-Type Calcium Channels in Neuronal Migration. *Science*, 257(5071), 806–809. <https://doi.org/10.1126/science.1323145>
- Lin, F., Ribar, T. J., & Means, A. R. (2011). The Ca²⁺/Calmodulin-Dependent Protein Kinase Kinase, CaMKK2, Inhibits Preadipocyte Differentiation. *Endocrinology*, 152(10), 3668–3679. <https://doi.org/10.1210/en.2011-1107>
- Llinás, R., Sugimori, M., Lin, J. W., & Cherksey, B. (1989). Blocking and isolation of a calcium channel from neurons in mammals and cephalopods utilizing a toxin fraction (FTX) from funnel-web spider poison. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(5), 1689–1693. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.5.1689>
- Louhivuori, L. M., Louhivuori, V., Wigren, H.-K., Hakala, E., Jansson, L. C., Nordström, T., Castrén, M. L., & Åkerman, K. E. (2013). Role of Low Voltage Activated Calcium Channels in Neuritogenesis and Active Migration of Embryonic Neural Progenitor Cells. *Stem Cells and Development*, 22(8), 1206–1219. <https://doi.org/10.1089/scd.2012.0234>
- Mahajan, A., Sato, D., Shiferaw, Y., Baher, A., Xie, L.-H., Peralta, R., Olcese, R., Garfinkel, A., Qu, Z., & Weiss, J. N. (2008). Modifying L-Type Calcium Current Kinetics: Consequences for Cardiac Excitation and Arrhythmia Dynamics. *Biophysical Journal*, 94(2), 411–423. <https://doi.org/10.1529/biophysj.106.98590>
- Mangoni, M. E., Traboulsie, A., Leoni, A.-L., Couette, B., Marger, L., Le Quang, K., Kupfer, E., Cohen-Solal, A., Vilar, J., Shin, H.-S., Escande, D., Charpentier, F., Nargeot, J., & Lory, P. (2006). Bradycardia and Slowing of the Atrioventricular Conduction in Mice Lacking Ca_v3.1/α_{1G} T-Type Calcium Channels. *Circulation Research*, 98(11), 1422–1430. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000225862.14314.49>
- Meng, Y., Toledo-Rodriguez, M., Fedorenko, O., & Smith, P. A. (2024). Sex and age affect depot expression of Ca²⁺ channels in rat white fat adipocytes. *Journal of Molecular Endocrinology*, 72(4). <https://doi.org/10.1530/JME-23-0108>
- Mezler, M., Barghorn, S., Schoemaker, H., Gross, G., & Nimrich, V. (2012). A β-amyloid oligomer directly modulates P/Q-type calcium currents in *Xenopus* oocytes. *British Journal of Pharmacology*, 165(5), 1572–1583. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01646.x>
- Nakada, T., Kashiwara, T., Komatsu, M., Kojima, K., Takeshita, T., & Yamada, M. (2018). Physical interaction of junctophilin and the Ca_v1.1 C terminus is crucial for skeletal muscle contraction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(17), 4507–4512. <https://doi.org/10.1073/pnas.1716649115>
- Newcomb, R., Szoke, B., Palma, A., Wang, G., Chen, X., Hopkins, W., Cong, R., Miller, J., Urge, L., Tarczy-Hornoch, K., Loo, J. A., Dooley, D. J., Nadasdi, L., Tsien, R. W., Lemos, J., & Miljanich, G. (1998). Selective Peptide Antagonist of the Class E Calcium Channel from the Venom of the Tarantula *Hysterocrates gigas*. *Biochemistry*, 37(44), 15353–15362. <https://doi.org/10.1021/bi981255g>

- Ninomiya, W., Mizobuchi, K., Hayashi, T., Okude, S., Katagiri, S., Kubo, A., Masuhara, N., & Nakano, T. (2020). Electroretinographic abnormalities associated with pregabalin: a case report. *Documenta Ophthalmologica*, 140(3), 279–287. <https://doi.org/10.1007/s10633-019-09743-1>
- Oguri, A., Tanaka, T., Iida, H., Meguro, K., Takano, H., Oonuma, H., Nishimura, S., Morita, T., Yamasoba, T., Nagai, R., & Nakajima, T. (2010). Involvement of Ca_v3.1 T-type calcium channels in cell proliferation in mouse preadipocytes. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 298(6), C1414–C1423. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00488.2009>
- Opatowsky, Y., Chomsky-Hecht, O., Kang, M.-G., Campbell, K. P., & Hirsch, J. A. (2003). The Voltage-dependent Calcium Channel β Subunit Contains Two Stable Interacting Domains. *Journal of Biological Chemistry*, 278(52), 52323–52332. <https://doi.org/10.1074/jbc.M303564200>
- Pershad Singh, H. A., Lee, L.-Y., & Snowdowne, K. W. (1989). Evidence for a sodium/calcium exchanger and voltage-dependent calcium channels in adipocytes. *FEBS Letters*, 244(1), 89–92. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(89\)81169-X](https://doi.org/10.1016/0014-5793(89)81169-X)
- Phillips, A. M., Bull, A., & Kelly, L. E. (1992). Identification of a Drosophila gene encoding a calmodulin-binding protein with homology to the trp phototransduction gene. *Neuron*, 8(4), 631–642. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(92\)90085-R](https://doi.org/10.1016/0896-6273(92)90085-R)
- Pitake, S., Middleton, L. J., Abdus-Saboor, I., & Mishra, S. K. (2019). Inflammation Induced Sensory Nerve Growth and Pain Hypersensitivity Requires the N-Type Calcium Channel Cav2.2. *Frontiers in Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01009>
- *Pozzan, T., Rizzuto, R., Volpe, P., & Meldolesi, J. (1994). Molecular and cellular physiology of intracellular calcium stores. *Physiological Reviews*, 74(3), 595–636. <https://doi.org/10.1152/physrev.1994.74.3.595>
- Qiu, J., Bosch, M. A., Jamali, K., Xue, C., Kelly, M. J., & Rønnekleiv, O. K. (2006). Estrogen Upregulates T-Type Calcium Channels in the Hypothalamus and Pituitary. *The Journal of Neuroscience*, 26(43), 11072–11082. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3229-06.2006>
- Qiu, Y., Nguyen, K. D., Odegaard, J. I., Cui, X., Tian, X., Locksley, R. M., Palmiter, R. D., & Chawla, A. (2014). Eosinophils and Type 2 Cytokine Signaling in Macrophages Orchestrate Development of Functional Beige Fat. *Cell*, 157(6), 1292–1308. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.066>
- Rosenstand, K., Andersen, K., Terp, R., Gennemark, P., Ellman, D. G., Reznichenko, A., Lambertsen, K. L., Vanhoutte, P. M., Hansen, P. B. L., & Svingen, P. (2020). Deficiency of T-type voltage-gated calcium channels results in attenuated weight gain and improved endothelium-dependent dilatation of resistance vessels induced by a high-fat diet in mice. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 76(1), 135–145. <https://doi.org/10.1007/s13105-020-00728-2>
- Rosenwald, M., Perdikari, A., Rülcke, T., & Wolfrum, C. (2013). Bi-directional interconversion of brite and white adipocytes. *Nature Cell Biology*, 15(6), 659–667. <https://doi.org/10.1038/ncb2740>
- Sato, K., Umeno, H., & Nakashima, T. (2005). Histological investigation of liposuctioned fat for injection laryngoplasty. *American Journal of Otolaryngology*, 26(4), 219–225. <https://doi.org/10.1016/J.AMJOTO.2004.11.019>
- Seale, P., Bjork, B., Yang, W., Kajimura, S., Chin, S., Kuang, S., Scimè, A., Devarakonda, S., Conroe, H. M., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Rudnicki, M. A., Beier, D. R., & Spiegelman, B. M.

- (2008). PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature*, 454(7207), 961–967. <https://doi.org/10.1038/nature07182>
- Suárez-Zamorano, N., Fabbiano, S., Chevalier, C., Stojanović, O., Colin, D. J., Stevanović, A., Veyrat-Durebex, C., Tarallo, V., Rigo, D., Germain, S., Ilievska, M., Montet, X., Seimbille, Y., Hapfelmeier, S., & Trajkovski, M. (2015). Microbiota depletion promotes browning of white adipose tissue and reduces obesity. *Nature Medicine*, 21(12), 1497–1501. <https://doi.org/10.1038/nm.3994>
- Sun, W., Dong, H., Balaz, M., Slyper, M., Drokhlyansky, E., Colleluori, G., Giordano, A., Kovanicova, Z., Stefanicka, P., Balazova, L., Ding, L., Husted, A. S., Rudofsky, G., Ukropec, J., Cinti, S., Schwartz, T. W., Regev, A., & Wolfrum, C. (2020). snRNA-seq reveals a subpopulation of adipocytes that regulates thermogenesis. *Nature*, 587(7832), 98–102. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2856-x>
- Takahashi, M., Seagar, M. J., Jones, J. F., Reber, B. F., & Catterall, W. A. (1987a). Subunit structure of dihydropyridine-sensitive calcium channels from skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(15), 5478–5482. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.15.5478>
- Talley, E. M., Cribbs, L. L., Lee, J.-H., Daud, A., Perez-Reyes, E., & Bayliss, D. A. (1999). Differential Distribution of Three Members of a Gene Family Encoding Low Voltage-Activated (T-Type) Calcium Channels. *The Journal of Neuroscience*, 19(6), 1895–1911. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-06-01895.1999>
- Tanimura, R., Kobayashi, L., Shirai, T., & Takemasa, T. (2022). Effects of exercise intensity on white adipose tissue browning and its regulatory signals in mice. *Physiological Reports*, 10(5). <https://doi.org/10.14814/phy2.15205>
- Thuesen, A. D., Lyngsø, K. S., Rasmussen, L., Stubbe, J., Skøtt, O., Poulsen, F. R., Pedersen, C. B., Rasmussen, L. M., & Hansen, P. B. L. (2017). P/Q-type and T-type voltage-gated calcium channels are involved in the contraction of mammary and brain blood vessels from hypertensive patients. *Acta Physiologica*, 219(3), 642–653. <https://doi.org/10.1111/apha.12732>
- Todorovic, S. M., Jevtovic-Todorovic, V., Meyenburg, A., Mennerick, S., Perez-Reyes, E., Romano, C., Olney, J. W., & Zorumski, C. F. (2001). Redox Modulation of T-Type Calcium Channels in Rat Peripheral Nociceptors. *Neuron*, 31(1), 75–85. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00338-5](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00338-5)
- Turovsky, E. A., Varlamova, E. G., & Turovskaya, M. V. (2021). Activation of Cx43 Hemichannels Induces the Generation of Ca²⁺ Oscillations in White Adipocytes and Stimulates Lipolysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15), 8095. <https://doi.org/10.3390/ijms22158095>
- Uebele, V. N., Gotter, A. L., Nuss, C. E., Kraus, R. L., Doran, S. M., Garson, S. L., Reiss, D. R., Li, Y., Barrow, J. C., Reger, T. S., Yang, Z.-Q., Ballard, J. E., Tang, C., Metzger, J. M., Wang, S.-P., Koblan, K. S., & Renger, J. J. (2009). Antagonism of T-type calcium channels inhibits high-fat diet–induced weight gain in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 119(6), 1659–1667. <https://doi.org/10.1172/JCI36954>
- Ueno, D., Masaki, T., Gotoh, K., Chiba, S., Kakuma, T., & Yoshimatsu, H. (2013). Cilnidipine regulates glucose metabolism and levels of high-molecular adiponectin in diet-induced obese mice. *Hypertension Research*, 36(3), 196–201. <https://doi.org/10.1038/hr.2012.141>

- Upasani, C. D., & Sherikar, A. K. (2023). Differential roles of blockade of CaV2.2-alpha2/delta1-beta1 subtype calcium channel on two models' of peripheral neuropathic pain. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2023.137731>
- Wang, S., Liang, X., Yang, Q., Fu, X., Rogers, C. J., Zhu, M., Rodgers, B. D., Jiang, Q., Dodson, M. V, & Du, M. (2015). Resveratrol induces brown-like adipocyte formation in white fat through activation of AMP-activated protein kinase (AMPK) α 1. *International Journal of Obesity*, 39(6), 967–976. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.23>
- Whitehead, J. P., Molero, J. C., Clark, S., Martin, S., Meneilly, G., & James, D. E. (2001). The Role of Ca²⁺ in Insulin-stimulated Glucose Transport in 3T3-L1 Cells. *Journal of Biological Chemistry*, 276(30), 27816–27824. <https://doi.org/10.1074/jbc.M011590200>
- Wu, J., Yan, Z., Li, Z., Yan, C., Lu, S., Dong, M., & Yan, N. (2015). Structure of the voltage-gated calcium channel Ca v 1.1 complex. *Science*, 350(6267). <https://doi.org/10.1126/science.aad2395>
- Xi, W., Chen, W., Sun, W., Li, X., Suo, Z., Jiang, G., Gao, P., & Li, Q. (2021). Mitochondrial activity regulates the differentiation of skin-derived mesenchymal stem cells into brown adipocytes to contribute to hypertension. *Stem Cell Research & Therapy*, 12(1), 167. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02169-0>
- Xue, B., Moustaid-Moussa, N., Wilkison, W. O., & Zemel, M. B. (1998). The *agouti* gene product inhibits lipolysis in human adipocytes via a Ca²⁺-dependent mechanism. *The FASEB Journal*, 12(13), 1391–1396. <https://doi.org/10.1096/fasebj.12.13.1391>
- Yamauchi, T., Kamon, J., Minokoshi, Y., Ito, Y., Waki, H., Uchida, S., Yamashita, S., Noda, M., Kita, S., Ueki, K., Eto, K., Akanuma, Y., Froguel, P., Foufelle, F., Ferre, P., Carling, D., Kimura, S., Nagai, R., Kahn, B. B., & Kadowaki, T. (2002). Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature Medicine*, 8(11), 1288–1295. <https://doi.org/10.1038/nm788>
- Zemel, M. B. (2001). Calcium Modulation of Hypertension and Obesity: Mechanisms and Implications. *Journal of the American College of Nutrition*, 20(sup5), 428S-435S. <https://doi.org/10.1080/07315724.2001.10719180>
- Zemel, M. B., Shi, H., Greer, B., Dirienzo, D., & Zemel, P. C. (2000). Regulation of adiposity by dietary calcium. *The FASEB Journal*, 14(9), 1132–1138. <https://doi.org/10.1096/fasebj.14.9.1132>
- Zhang, F., Ye, J., Meng, Y., Ai, W., Su, H., Zheng, J., Liu, F., Zhu, X., Wang, L., Gao, P., Shu, G., Jiang, Q., & Wang, S. (2018). Calcium Supplementation Enhanced Adipogenesis and Improved Glucose Homeostasis Through Activation of Camkii and PI3K/Akt Signaling Pathway in Porcine Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells (pBMSCs) and Mice Fed High Fat Diet (HFD). *Cellular Physiology and Biochemistry*, 51(1), 154–172. <https://doi.org/10.1159/000495171>
- Zhang, M., Tanaka, T., & Ikura, M. (1995). Calcium-induced conformational transition revealed by the solution structure of apo calmodulin. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2(9), 758–767. <https://doi.org/10.1038/nsb0995-758>
- Zhang, Y., Hao, J., Tarrago, M. G., Warner, G. M., Giorgadze, N., Wei, Q., Huang, Y., He, K., Chen, C., Peclat, T. R., White, T. A., Ling, K., Tchkonja, T., Kirkland, J. L., Chini, E. N., & Hu, J. (2021). FBF1 deficiency promotes beiging and healthy expansion of white adipose tissue. *Cell Reports*, 36(5), 109481. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109481>

- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372(6505), 425–432. <https://doi.org/10.1038/372425a0>
- Zhang, Z., Zhang, H., Li, B., Meng, X., Wang, J., Zhang, Y., Yao, S., Ma, Q., Jin, L., Yang, J., Wang, W., & Ning, G. (2014). Berberine activates thermogenesis in white and brown adipose tissue. *Nature Communications*, 5(1), 5493. <https://doi.org/10.1038/ncomms6493>
- Zhen, X., Xie, C., Fitzmaurice, A., Schoonover, C. E., Orenstein, E. T., & Yang, J. (2005). Functional Architecture of the Inner Pore of a Voltage-gated Ca²⁺ Channel. *The Journal of General Physiology*, 126(3), 193–204. <https://doi.org/10.1085/jgp.200509292>
- *Ziqubu, K., Dlodla, P. V., Mthembu, S. X. H., Nkambule, B. B., Mabhida, S. E., Jack, B. U., Nyambuya, T. M., & Mazibuko-Mbeje, S. E. (2023). An insight into brown/beige adipose tissue whitening, a metabolic complication of obesity with the multifactorial origin. *Frontiers in Endocrinology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1114767>