

REVIEW

HOMEOSTASIS Ca²⁺ INTRASELULAR

INTRACELLULAR Ca²⁺ HOMEOSTASIS

*Shahdevi Nandar Kurniawan**

*Laboratorium Neurologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

pISSN : 2407-6724 • eISSN : 2442-5001 • <http://dx.doi.org/10.21776/ub.mnj.2015.001.01.7> • MNJ.2015;1(1):36-45
• Received 13 January 2014 • Reviewed 13 March 2014 • Accepted 13 June 2014

ABSTRAK

Sinyal Ca²⁺ berfungsi untuk mengatur banyak proses seluler. Dinamika atau homeostasis sinyal Ca²⁺ diatur oleh interaksi antara reaksi ON dan OFF yang mengendalikan fluks Ca²⁺ di kedua plasma membran dan organel internal seperti retikulum endoplasma (ER) dan mitokondria. Rangsangan eksternal mengaktifkan reaksi ON, yang memasukkan Ca²⁺ ke dalam sitoplasma baik melalui saluran di membran plasma atau dari penyimpanan internal seperti di ER. Kebanyakan sel memanfaatkan dari kedua saluran/sumber, tetapi ada beberapa sel menggunakan sumber eksternal atau internal untuk mengontrol proses tertentu. Sebagian besar Ca²⁺ yang masuk sitoplasma teradsorpsi ke buffer, sedangkan sebagian yang lebih kecil mengaktifkan efektor untuk merangsang proses seluler. Reaksi OFF mengeluarkan Ca²⁺ dari sitoplasma menggunakan mekanisme kombinasi pompa mitokondria dan yang lainnya. Perubahan sinyal Ca²⁺ telah terdeteksi dalam berbagai jaringan isolasi dari hewan yang diinduksi menjadi diabetes seperti juga pasien dengan diabetes. Gangguan sinyal Ca²⁺ juga ditemukan di neuron sensorik dari hewan eksperimental dengan diabetes. Sinyal Ca²⁺ adalah salah satu sistem sinyal utama di dalam sel.

Kata kunci: Ca²⁺, retikulum endoplasma, homeostasis

ABSTRACT

Ca²⁺ signaling functions to regulate many cellular processes. Dynamics of Ca²⁺ signaling or homeostasis is regulated by the interaction between ON and OFF reactions that control Ca²⁺ flux in both the plasma membrane and internal organelles such as the endoplasmic reticulum (ER) and mitochondria. External stimuli activate the ON reactions, which include Ca²⁺ into the cytoplasm either through channels in the plasma membrane or from internal storage like in ER. Most of the cells utilize both channels/sources, but there are a few cells using an external or internal source to control certain processes. Most of the Ca²⁺ entering the cytoplasm adsorbed to the buffer, while a smaller part activate effect or to stimulate cellular processes. Reaction OFF is pumping of cytoplasmic Ca²⁺ using a combination mechanism of mitochondrial and others. Changes in Ca²⁺ signal has been detected in various tissues isolated from animals induced into diabetes as well as patients with diabetes. Ca²⁺ signal interference is also found in sensory neurons of experimental animals with diabetes. Ca²⁺ signaling is one of the main signaling systems in the cell.

Keywords: Ca²⁺, endoplasmic reticulum, homeostasis

Korespondensi: herpanharahap@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

Meningkatnya kadar Ca²⁺ dalam sel terkadang tidak sesuai dengan Sebagai salah satu *second messenger*, Ca²⁺ intrasel berperan penting dalam regulasi fungsi sel, dimana regulasi ini diatur oleh keseimbangan Ca²⁺ intrasel. Beberapa komponen yang berperan dalam keseimbangan Ca²⁺ intrasel adalah ikatan Ca²⁺ dengan protein EF-hand dan kalmodulin. Bila sebuah sel teraktivasi akibat sinyal eksternal, kadar Ca²⁺ bebas intrasel akan meningkat sampai 100 kali karena masuknya Ca²⁺ ekstrasel atau pengeluaran Ca²⁺ dari penyimpanannya. Peningkatan Ca²⁺ bebas di dalam sitosol akan mengakibatkan sinyal transduksi berbagai aktivitas seluler yang berbeda seperti : kontraksi otot, metabolisme glikogen, fertilisasi, pertumbuhan sel, pembelahan, apoptosis dan lainnya. Aktivitas seluler ini terjadi diakibatkan interaksi antara Ca²⁺ dengan protein spesifik didalam sel.^{1,2}

Perubahan sinyal Ca²⁺ telah terdeteksi dalam berbagai jaringan isolasi dari hewan yang diinduksi menjadi diabetes seperti juga pasien dengan diabetes. Kelainan homeostasis Ca²⁺ juga telah ditemukan dalam berbagai jaringan, termasuk tulang, jantung dan otot polos, sel sekretori, sel darah, ginjal dan osteoblas. Kelainan ini umumnya bermanifestasi sebagai peningkatan konsentrasi istirahat dari Ca²⁺ intraseluler ([Ca²⁺]_i), penurunan aktivitas transporter Ca²⁺ (meskipun tidak selalu) dan penurunan stimulus yang membangkitkan sinyal Ca²⁺. Gangguan sinyal Ca²⁺ juga ditemukan di neuron sensorik dari hewan eksperimental dengan diabetes.^{3,4}

Ada perbedaan mekanisme keseimbangan Ca²⁺ intrasel pada berbagai tipe sel, contohnya pada sel otot skeletal dan sel T, pada sel otot skeletal komponen untuk sinyal Ca²⁺ menghantar lebih cepat karena diperlukan untuk kontraksi otot, sedangkan pada sel T lebih lambat karena sinyal Ca²⁺ diperlukan hanya untuk stimulasi dan proliferasi.⁵

Prinsip Transduksi Sinyal Intrasel. Reseptor di permukaan sel dapat mengenali berbagai sinyal ekstrasel dan diperbanyak sebagai kaskade intrasel, sinyal ekstrasel ini disebut sebagai *primary messenger*. Sinyal intrasel yang terjadi akibat perubahan sinyal dari permukaan memerlukan *second messenger* untuk berbagai aktivitas intrasel. Kebanyakan multiplikasi sinyal intrasel memakai protein dan enzim fosforilasi

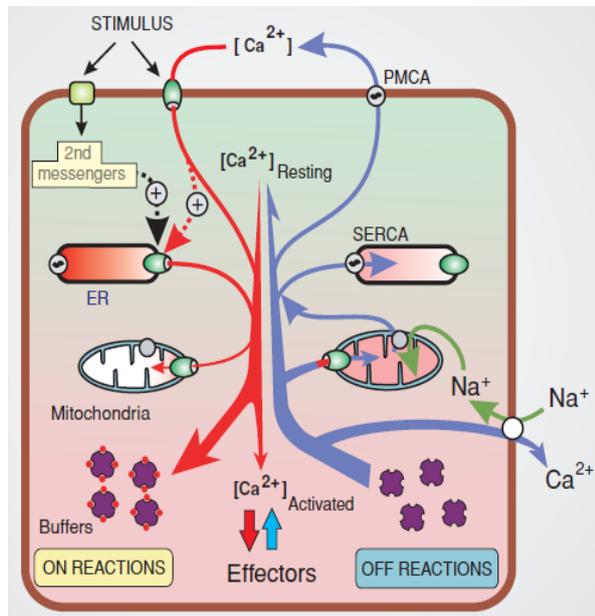
atau defosforilasi dengan mengaktifkan berbagai kinase atau fosfatase. Sampai saat ini kelompok messenger intrasel adalah: Siklik nukleotida (AMP, GMP, ADP-ribose), Fosfatidilinositol (IP₃, IP₄, PIP₂, DAG), Ion Ca²⁺ bebas, Gas seperti NO dan CO, dan NAADP.¹

Prinsip Dasar Sinyal Ca²⁺. Konsep dasar dari suatu jalur sinyal sel adalah sel menerima stimulus ekstrasel kemudian meneruskannya melalui sinyal intrasel untuk mengaktifkan mekanisme sensor dan efektor yang mengakibatkan respon seluler. Sinyal sel ini adalah kejadian yang dinamik, karena berkaitan dengan mekanisme ON (hidup) dimana terjadi rangkaian jalur sinyal ke bawah akibat stimulus eksternal. Sedangkan lawan dari mekanisme ON adalah mekanisme OFF (mati) yang terjadi rangkaian yang berlawanan dengan rangkaian ON (gambar 1).

Sinyal Ca²⁺ adalah salah satu sistem sinyal utama di dalam sel. Sinyal Ca²⁺ ini berfungsi untuk mengatur banyak proses seluler. Sinyal Ca²⁺ dapat memicu kehidupan baru pada saat proses pembuahan, juga mengontrol banyak proses selama pertumbuhan, begitu satu sel membelah/berdiferensiasi, sinyal akan mengatur hampir semua aktivitas proses seluler, yang menentukan bagaimana metabolisme, sekresi, bergerak dan berpikir. Ada juga efek merugikan untuk sinyal Ca²⁺ ini, naiknya konsentrasi yang berlebihan dapat menyebabkan kematian sel, baik dalam cara yang terkendali atau sel terprogram (apoptosis) atau proses yang menghasilkan nekrotik seperti iskemia pada stroke atau jantung.⁵

Mekanisme dasar dari sinyal Ca²⁺ relatif sederhana, dalam hal ini tergantung pada peningkatan konsentrasi ion intraseluler. Konsentrasi Ca²⁺ rendah ketika sel beristirahat, tetapi ketika sebuah stimulus yang kuat tiba, ada elevasi dari konsentrasi Ca²⁺ yang mendadak, hal ini bertanggung jawab untuk perubahan dalam aktivitas seluler. Variasi dan fleksibilitas dari sinyal Ca²⁺ dicapai dengan banyaknya *toolkit* Ca²⁺ dimana sebagian besar Ca²⁺ masuk atau keluar. *Toolkit* yang banyak ini berisi berbagai komponen yang dapat bergabung dan cocok dengan sinyal Ca²⁺ lainnya. Ada kanal Ca²⁺ yang mengontrol masuknya Ca²⁺ dari luar dan ada kanal Ca²⁺ yang mengendalikan pelepasan Ca²⁺ dari tempat penyimpanan. Buffer Ca²⁺ membuat konsentrasi Ca²⁺ tetap dalam ambang tetap dan tidak naik ke tingkat yang dapat menginduksi kematian sel.

Salah satu cara mengeluarkan Ca²⁺ dari sitoplasma adalah dengan pompa dan penukar Ca²⁺ dengan mengekstrusi dari sel atau kembali ke tempat penyimpanan. Pengaturan sinyal Ca²⁺ dilakukan oleh berbagai sensor dan efektor Ca²⁺ yang bertanggung jawab untuk menerjemahkan sinyal Ca²⁺ menjadi perubahan aktivitas di dalam selular.⁵

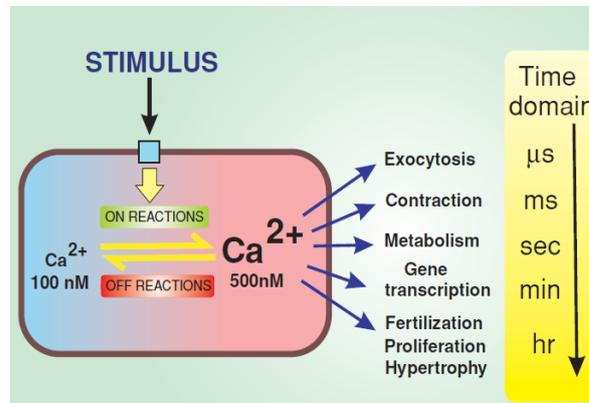


Gambar 1. Dinamika sinyal Ca²⁺.⁵

Dinamika sinyal Ca²⁺ diatur oleh interaksi antara reaksi ON dan OFF yang mengendalikan fluks Ca²⁺ di kedua plasma membran dan organel internal seperti retikulum endoplasma (ER) dan di mitokondria. Rangsangan eksternal mengaktifkan reaksi ON, yang memasukkan Ca²⁺ ke dalam sitoplasma baik melalui saluran di membran plasma atau dari penyimpanan internal seperti di ER. Kebanyakan sel memanfaatkan kedua saluran/sumber, tetapi ada beberapa sel menggunakan sumber eksternal atau internal untuk mengontrol proses tertentu. Sebagian besar Ca²⁺ yang masuk sitoplasma teradsorpsi ke buffer, sedangkan sebagian yang lebih kecil mengaktifkan efektor untuk merangsang proses seluler. Reaksi OFF mengeluarkan Ca²⁺ dari sitoplasma menggunakan mekanisme kombinasi pompa mitokondria dan yang lainnya. Ketika sel sedang beristirahat, reaksi OFF ini menjaga konsentrasi tetap rendah, tetapi akan naik ketika rangsangan eksternal mengaktifkan reaksi ON. Sequential aktivasi reaksi ON dan OFF menimbulkan kenaikan transien Ca²⁺ sebagai karakteristik dari sistem sinyal Ca²⁺ (gambar 2).⁵

Konsentrasi Ca²⁺ dalam sel saat istirahat adalah sekitar 100nM, tapi ini meningkat menjadi 500nM

atau lebih setelah stimulus yang mengaktifkan reaksi ON Ca²⁺. Ketika stimulus dihilangkan, reaksi OFF Ca²⁺ mengembalikan konsentrasi Ca²⁺ ke level istirahat. Ca²⁺ adalah sinyal universal yang mampu mengaktifkan banyak proses seluler yang berbeda dan beroperasi dalam domain waktu sangat lebar.⁵



Gambar 2. Mekanisme dasar dari sinyal Ca²⁺.⁵

Osilasi Ca²⁺ Intrasel. Sinyal yang diberikan, tetapi yang paling berpengaruh adalah meningkatnya frekuensi, bukan amplitudo/tingginya kenaikan, jadi sinyal ekstraseluler yang berbentuk analog di dalam intrasel diubah menjadi bentuk digital. Dalam beberapa penelitian ini disebut juga dengan *spikes*, atau ditambahi dengan *waves*. Ini merupakan proses yang penting dalam jalur transduksi. Dua model yang menjelaskan fenomena ini: Model oleh Meyer dan Stryer, ICC (*IP₃-Ca²⁺ crosscoupling*) dan Model oleh Berridge, CICR (*calcium-induced calcium release*).

Kedua model ini penting karena mempunyai positif *feedback*, bekerjasama, deaktivasi dan reaktivasi diantara keduanya. Model ICC intinya adalah memperkuat keluarnya IP₃-induced Ca²⁺, sehingga Ca²⁺ menstimulasi formasi IP₃ terjadinya *crosscoupling* antara dua *second messenger*. Sebaliknya pada model CICR mempengaruhi tempat penyimpanan Ca²⁺ bebas sitosol, yaitu yang pertama mempengaruhi Ca²⁺ akibat keluarnya IP₃-induced Ca²⁺ dan yang kedua adalah mempengaruhi kanal Ca²⁺-induced Ca²⁺ release. Pada model ini teraktivasinya reseptor akan mengakibatkan terjadinya formasi IP₃, yang akan melepaskan Ca²⁺ dari penyimpanannya, sehingga terjadi efflux konstan dari Ca²⁺. Efflux dari Ca²⁺ akan menstimulasi penyimpanan untuk melakukan proses autokatalitik, yang tergantung depleksi dan refilling penyimpanan Ca²⁺. Ca²⁺ spike akan mengakibatkan gelombang Ca²⁺ (*waves*) atau propagasi antara 10-1000 kali dari berbagai sel.

Kecepatan difusi IP₃ 100 kali lebih cepat daripada Ca²⁺ itu sendiri.^{1,6}

Ikatan Ca²⁺-PROTEIN Intraseluler. Perbedaan kadar Ca²⁺ ekstraselular dan intraselular mengakibatkan terjadinya gradien konsentrasi di membran sel. Pada area ekstraselular, afinitas Ca²⁺-protein lebih rendah dibanding intraselular yang lebih tinggi, afinitas yang tinggi ini disebabkan ikatan helix-loop-helix-Ca yang juga disebut sebagai EF hand. Bentuk helix-loop-helix banyak dapat ditemui pada protein ini. Protein ini terdiri dari dua bentukan homolog untuk ikatan Ca²⁺, yang masing-masing mempunyai dua α -helix perpendicular yang mengikat Ca²⁺, sehingga disebut juga EF-hand dan merupakan suatu protein parvalbumin. Parvalbumin merupakan prototip untuk protein yang mengikat Ca²⁺ intrasel, yang strukturnya mirip dengan kalmodulin, troponin C, recoverin, protein S100 dan lain-lain. Sampai saat ini hampir 50 struktur protein EF-hand yang diketahui.¹

Kalmodulin. Beberapa protein yang berikatan dengan Ca²⁺ berguna untuk meneruskan sinyal Ca²⁺ dalam sitosol. Protein yang paling penting adalah kalmodulin, yang bisa ditemukan di hampir setiap sel eukariotik dan membentuk hampir 1% dari semua total massa protein. Kalmodulin berfungsi sebagai reseptor Ca²⁺ intrasel dan mengatur proses yang melibatkan Ca²⁺. Kalmodulin terbentuk dari protein yang kuat, satu rantai polipeptida dengan empat tempat ikatan Ca²⁺ dengan afinitas tinggi. Begitu Ca²⁺ melekat maka akan teraktivasi dan berubah formasinya, kadar Ca²⁺ yang meningkat 10 kali akan meningkatkan aktivasi kalmodulin hampir 50 kali lipat. Aktivasi alosterik kalmodulin oleh Ca²⁺ hampir sama aktivasi PKA oleh siklik AMP kecuali Ca²⁺/kalmodulin tidak memakai proses enzimatik. Begitu protein Ca²⁺/kalmodulin terikat dengan protein target, kalmodulin akan berubah untuk menyesuaikan sesuai target protein tertentu. Sebagai contoh, Ca²⁺/kalmodulin terikat dan mengaktivasi pompa Ca²⁺ di membran yang menggunakan enersi ATP untuk mengeluarkan Ca²⁺ keluar sel, sehingga begitu kadar Ca²⁺ dalam sitosol meningkat maka akan membantu mengurangi kadar Ca²⁺ ke level semula.^{6,7,8}

Kanal Ca²⁺. Perubahan konsentrasi kadar Ca²⁺ intraselular dapat diakibatkan karena sinyal dari tempat penyimpanan Ca²⁺ intrasel atau dari kompartemen ekstraselular lewat regulasi yang spesifik. Sub tipe kanal Ca²⁺ secara elektrofisiologi

dengan pembukaan kinetik dan konduktasinya dibedakan menjadi: Tipe L, konduktansinya kuat, *long lasting inward current*, antagonisnya dihidropiridin, Tipe T, *transient inward current*, Tipe N, neither tipe L or T, banyak di neuron, diblok oleh w-konotoksin GVIA, dan Tipe P, banyak ditemukan di sel Purkinje serebelar, di blok oleh w agatoksin IVA.

Tipe lain yang ditemukan adalah tipe Q dan R di sel Purkinje. Klasifikasi yang berbeda berdasarkan cara buka atau tutup formasi nya bisa dibedakan menjadi: VOC (*voltage gate channel*), pembukaannya tergantung voltase yang terjadi, ROC (*receptor-operated channels*), tergantung ikatan ligan tertentu, SOC (*store operated channels*), aktivasinya tergantung deplesi Ca²⁺ di ER dengan mekanisme CCE (*capacitative calcium entry*).

VOC mengandung 4 unit homolog, masing-masing mengandung 6 region transmembran dengan lubang konduksi, sensor voltase, yang bisa dilewati oleh protein kinase, toksin dan obat-obatan. Dihidropiridin, fenilalkalamin, dan benzodiazepin melekat di sub unit $\alpha 1$. Tiga macam kanal ROC telah diketahui, diaktivasi oleh glutamate dan beberapa agonis yang bisa menempel seperti KA, AMPA dan NMDA, sehingga dinamai juga dengan agonis yang menempel. Lokasinya berada di membran post sinap. Kanal yang dibentuk oleh reseptor KA dan AMPA permial terhadap Na⁺ dan K⁺, beberapa AMPA juga terhadap Ca²⁺, sedangkan NMDA permial terhadap Na⁺ dan Ca²⁺. Pada sel neuroendokrin, aktivasi oleh Ca²⁺ melewati kanal SOC, kanal ini tidak bisa diketahui secara detail dengan level protein tetapi homolog dengan reseptor potensial yang transien (Trp atau Trp-like) dari drosophila. Proses pada SOC melalui CCE, dimana lepasnya sejumlah kecil faktor kimia akan menginduksi pembukaan kanal, dan kemungkinan yang kedua adalah akibat interaksi fisik antara ER dan membran plasma.^{1,9,10}

Pompa Ca²⁺. Membran plasma mengontrol pertukaran Ca²⁺ antara intrasel dan ekstrasel. Ca²⁺ dalam jumlah kecil dan terkontrol dari Ca²⁺ bisa masuk ke dalam sel melewati kanal spesifik untuk menstimulasi aktivitas intraselular, termasuk mengeluarkan Ca²⁺ dari penyimpanannya. Sejumlah kadar yang sama Ca²⁺ juga harus dikeluarkan ke ekstraselular. Ada dua sistem yang diketahui yaitu, sebagian besar melalui pertukaran secara elektrik Na⁺ dan Ca²⁺. Sistem lainnya adalah

melalui ATPase (pompa PMCA) dengan afinitas yang tinggi tetapi dengan yang kapasitas rendah untuk mengeluarkan Ca²⁺, sehingga disebut juga sebagai *fine-tuner cellular Ca²⁺*. Ca²⁺ juga melakukan pertukaran antara sitoplasma dan organel internal, didominasi oleh mitokondria dan ER yang mempunyai pompa SERCA yang mempunyai mekanisme yang mirip dengan PMCA.^{11,12,13}

Total Ca²⁺ yang di transport di retikulum tergantung jumlah pompa yang ada, dimana jumlah yang tinggi terdapat di sel jantung dan otot skeletal, tetapi rendah di otot non skeletal. Pompa Ca²⁺ juga ditemukan pada eukariot rendah. Pada jamur terdapat dua pompa yaitu PMR1 dan PMC1 yang berada di komplek golgi dan vakuol. Sekuensinya 40-50% homolog dengan SERCA dan PMCA, PMC1 tidak mempunyai kalmodulin yang merupakan karakteristik dari pompa PMCA.^{11,12,13}

Pompa PMCA (*Plasma Membrane Calcium ATPase*). Pompa PMCA ditemukan sejak tahun 1966 dan berfungsi untuk mengeluarkan Ca²⁺ dari eritrosit. Dipurifikasi tahun 1979 dengan berat protein 135kDa. Arsitektur dari protein ini menyerupai pompa SERCA, mempunyai 10 domain transmembran dan tiga unit besar hidrofilik yang menonjol ke sitoplasma, yang berbeda adalah adanya tail panjang C-terminal yang mengandung tempat menempel kalmodulin. Kalmodulin adalah regulator utama untuk PMCA, meskipun *polyunsaturated fatty acid*, fosfolipid, protein kinase A atau C juga mengaktifasi pompa ini, dengan hasil mengurangi konsentrasi Ca²⁺. Setelah teraktivasi kemudian terjadi dimerisasi lewat ikatan dengan kalmodulin dan enzim proteolitik dengan menghilangkan C terminal. Ikatan kalmodulin pada saat istirahat akan mengikat pada kedua sisi bagian sitosol dari pompa, sehingga pompa akan tetap terhambat.^{11,12,13}

Pompa SERCA (*sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase*). Suatu enzim yang menghidrolisis ATP untuk transport Ca²⁺ yang melewati membran ER di temukan sejak 40 tahun yang lalu, kemudian di identifikasi sebagai pompa Ca²⁺ ER di sel non otot. ATPase yang kemudian dinamakan pompa SERCA sebagai protein dengan berat sekitar 100kDa. SERCA 1a adalah isoform mayor pada sel otot manusia dewasa dengan kontraksi yang cepat, sedangkan SERCA1b pada neonatus. SERCA2a ditemukan pada otot jantung dan otot dengan kontraksi lambat, sedangkan SERCA2b ditemukan pada otot polos dan hampir pada sel non

otot. SERCA3 diekspresikan hanya pada sel non lumen.¹¹

Prinsip kerja enzim pada pompa Ca²⁺ sebenarnya hampir sama. Ca²⁺ terikat pada satu salah satu sisi membran dan reaksinya ini tidak membutuhkan ATP, kemudian baru ATP menempel dan terpecah menjadi asil fosfat sebagai residu aspartik, formasi intermediate fosforilasi dinamakan juga pompa tipe P. Setelah fosforilasi, pompa bertransisi dari bentuk E1 ke bentuk E2, pada bentuk E1 pompa yang terikat Ca²⁺ dengan afinitas yang tinggi terekpos ke sisi sitosol, pada bentuk E2 Ca²⁺ yang terikat dengan afinitas yang rendah terekpos ke lumen ER/SR atau bagian ekstraselular, sehingga Ca²⁺ bisa dilepaskan. Setelah ATP dilepaskan dan enzim Ca²⁺ perlahan mengalami defosforilasi dan kembali ke bentuk E1.^{11,12,13}

Pertukaran Ca²⁺- Na⁺. Pertukaran natrium/kalsium (NCX, Na⁺/Ca²⁺ exchanger) di membran plasma (PM, plasma membran) merupakan faktor penting pada homeostasis dan regulasi Ca²⁺ di hampir semua sel. PM NCX ditemukan hampir 35 tahun yang lalu di sel kardiak dan neuron. Menggunakan energi dari gradien elektrokimia natrium dan secara tidak langsung dari ATP untuk transpor Ca²⁺. Sehingga hal yang penting pada impor atau ekspor Ca²⁺ tergantung pada rasio kopel NCX, potensial membran dan gradien konsentrasi natrium. Membranpotensial dan gradien natrium di pelihara oleh pompa natrium (Na⁺, K⁺-ATPase) yang dependen ATP. Pertukaran natrium-kalsium pada mitokondria juga telah diidentifikasi dan kerjanya mirip dengan NCX.¹¹

Pertukaran pada sel jantung dan neuron menunjukkan rasio kopel adalah 3Na⁺: 1Ca²⁺. Pertukaran Na⁺-Ca²⁺ juga terdapat pada sel fotoreseptor, sel ini juga tergantung pada K⁺ dan mempunyai rasio kopel 4Na⁺:(1Ca²⁺+K⁺) sehingga pertukaran ini juga disebut juga sebagai pertukaran Na/(Ca,K) atau NCKX. Famili dari NCX adalah NCX2, NCX2 dan NCX3, yang paling banyak adalah NCX1 dengan distribusi pada semua jaringan. Pada famili NCKX, ada tiga sub tipe yaitu NCKX1 pada fotoreseptor, NCKX2 pada rod dan neuron, dan NCKX3 terekspresi pada otak dan otot polos. Secara topologi NCKX hampir mirip dengan NCKX yang keduanya berfungsi pada perlekatan dan translokasi ion.^{11,14}

NCX dapat memfasilitasi pertukaran secara elektroneural natrium-natrium atau Ca²⁺-Ca²⁺, juga bisa untuk natrium masuk-Ca²⁺ keluar atau natrium

keluar-Ca²⁺ masuk. Untuk pertukaran Ca²⁺-Ca²⁺ diaktivasi oleh ion metal alkalin *nontransported*. Reaksi pertukaran natrium-Ca²⁺ secara konsisten dan sekuensial, dimana satu Ca²⁺ atau tiga natrium terikat pada salah satu sisi membran, lalu translokasi ke sisi membran lainnya, dan disosiasi sebelum ion lain terikat pada sisi tersebut. Pada pertukaran natrium masuk-kalsium keluar atau natrium keluar-kalsium masuk keduanya bersifat reogenik (berhubungan dengan arus listrik / *current flow*).^{11,15}

Buffer Ca²⁺. Hal yang prinsip pada buffer Ca²⁺ adalah semua grup yang mempunyai potensial negatif dapat sebagai *chelator* bagi Ca²⁺. Pada sistem ini banyak didominasi oleh grup karboksilik yang bermolekul kecil seperti sitrat atau grup protein karbonil. Termasuk disini adalah protein EF-hand, aneksin dan protein C2. Sebagian besar buffer Ca²⁺ termasuk di grup protein EF-hand.¹¹ Untuk mengetahui mekanisme buffer pada homeostasis Ca²⁺ ada beberapa parameter yang mempengaruhinya yaitu : konsentrasi sitosol, afinitas untuk ion Ca²⁺ atau ion metal lain, kinetik Ca²⁺ untuk melekat dan lepas serta mobilitas Ca²⁺ itu sendiri. Secara sederhana cara kerja buffer adalah begitu Ca²⁺ masuk ke dalam sel buffer akan mengikat Ca²⁺ dan menurunkan kadar Ca²⁺. Akan tetapi konsentrasi Ca²⁺ didapat dari keseimbangan Ca²⁺ melewati membran sel, bukan hanyadari adanya buffer itu sendiri.^{11,16,17}

Mitokondria dan Ca²⁺. Mitokondria tidak lagi sebagai organ statis sebagai produsen ATP, tetapi juga sebagai penyimpan berbagai protein letal dimana akan dikeluarkan pada kematian sel yang terprogram, sehingga sinyal Ca²⁺ intraselular menjadi penting. Sejak ditemukan ekspresi pada membran transpor Ca²⁺ di mitokondria, proses sinyal Ca²⁺ di mitokondria menjadi jelas.¹¹

Pergerakan kalsium di dalam mitokondria digerakkan oleh beberapa hal seperti: Uniporter, VDAC (*voltage dependent anion channel*), dan Pertukaran xNa⁺/Ca²⁺.

Ca²⁺ dimasukkan ke dalam membran dalam mitokondria oleh uniporter. Aktivitas uniporter dipengaruhi oleh suhu dan selektivitas kation sehingga hampir bisa disebut kanal daripada karier. Pengambilan Ca²⁺ lewat uniporter dihambat oleh ruterium merah (RuR), RuR juga menghambat banyak kanal kation termasuk kanal Ca²⁺ plasmalema, kanal ER yang sensitif rianudin dan kanal reseptor vanilloid, sehingga lebih

meyakinkan bahwa uniporter adalah suatu kanal. Uniporter diatur oleh kadar Ca²⁺ sitosol sehingga membutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi untuk menaikkan konsentrasi Ca²⁺ di mitokondria.^{11,18}

Membran terluar dari mitokondria permeabel terhadap ion kecil sehingga tidak dianggap dalam pertukaran Ca²⁺. Akan tetapi mempunyai peran penting terhadap modulasi Ca²⁺ oleh uniporter untuk melewati filter VDAC. VDAC adalah permeabel terhadap Ca²⁺ dan diatur baik konsentrasi Ca²⁺ dan RuR.^{11,18}

Jalan terpenting Ca²⁺ keluar dari mitokondria adalah lewat pertukaran xNa⁺/Ca²⁺. Awalnya diperkirakan lewat pertukaran elektroneural 2Na⁺/Ca²⁺, dan ini diragukan karena pertukaran ini membutuhkan energi dua kali lipat lebih banyak daripada melawan gradien natrium. Masuknya Ca²⁺ ke mitokondria dihambat oleh depolarisasi mitokondria.^{11,19}

Retikulum Endoplasmik dan Ca²⁺. ER sebagai organel sinyal universal, fungsi ER banyak, pertama dan terpenting adalah tempat sintesis dan pematangan protein. Sintesis protein dilakukan di ER kasar, sedangkan pengolahan protein setelah translasi diatur caperon sebagai bagian dari ER, yang membentuk kompleks protein yang baru disintesis, kemudian membantu melipat ke dalam struktur tersier akhir dan mencegah terjadinya agregasi. Jika proses melipat gagal, caperon akan tetap dirakit dengan protein yang gagal melipat, sehingga dicegah untuk keluar melalui ER dan menuju kompleks Golgi. Setiap kali konsentrasi protein tak terlipat meningkat sangat tinggi, ER mengembangkan reaksi khusus yang dikenal sebagai stres ER, akibatnya sinyal yang mempengaruhi transkripsi akan dikirim ke inti, yang akan mengatur ekspresi gen sesuai dengan lingkungan sekitar. Selain sintesis protein, ER adalah tempat pembentukan fosfolipid, *glucosylphosphatidylinositols*, dan leukotrien. ER juga dapat berfungsi sebagai tempat pembuangan berbagai molekul dan racun tidak diinginkan. Karena ER mempunyai lumen yang kontinyu, sebagai jalan raya yang memungkinkan pengangkutan dari RNA, produk sekretorik, berbagai protein dan ion antar bagian sel terpolarisasi. ER ini juga erat terlibat dalam sinyal selular yang cepat, karena merupakan tempat penyimpanan dinamis dari Ca²⁺ yang mengatur konsentrasi Ca²⁺ sitosol dan menghasilkan fluk Ca²⁺ antara sitosol dan lumen ER dalam merespon

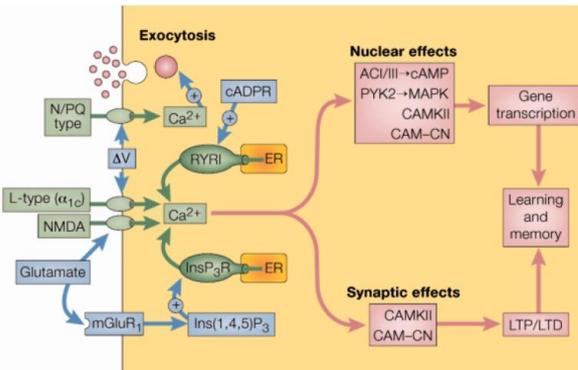
rangsangan ekstraseluler. Akhirnya, ER mengkoordinasikan semua beragam proses fisiologis sel. Oleh karena itu, ER didefinisikan sebagai organel multifungsi yang mampu mendeteksi dan mengintegrasikan sinyal masuk dan menghasilkan sinyal yang keluar dalam merespon terhadap perubahan lingkungan.^{20,21}

Mekanisme pasti integrasi ER belum ditemukan, termasuk peran sentral dari Ca²⁺. Ca²⁺ adalah kunci dari sinyal input dan output dari ER. Peningkatan konsentrasi Ca²⁺ sitosol mempengaruhi konsentrasinya di ER, dan pada gilirannya keluar-masuknya Ca²⁺ di ER akan mempengaruhi konsentrasi Ca²⁺ sitosol. Sejumlah caperon intra-ER, seperti kalretikulin, kalneksin, grp78/BiP, endoplasmic (atau protein yang diatur glukosa, grp94), adalah protein pengikat Ca²⁺, dan perubahan konsentrasi Ca²⁺ bebas pada lumen ER sangat mempengaruhi aktivitas fungsional sel.^{20,21}

Fisiologi dasar ER sebagai penyimpanan Ca²⁺ diketahui pada berbagai sel eksitabel dan sel non eksitabel. ER bertindak sebagai penyimpan Ca²⁺ yang dinamis bersama saluran Ca²⁺, transporter yang berada di endomembran, protein pengikat Ca²⁺ intraluminal serta sistem buffer Ca²⁺ dengan kapasitas tinggi. Ca²⁺ yang keluar dari ER lewat dua saluran Ca²⁺ yaitu saluran Ca²⁺-gated Ca²⁺ yang umumnya dikenal sebagai reseptor rianudin (RyRs) dan saluran InsP₃-gated yang umumnya dikenal sebagai reseptor InsP₃ (InsP₃Rs). Akumulasi Ca²⁺ ke dalam lumen ER merupakan salah satu hasil dari aktivitas pompa sarco/endoplasmic retikulum Ca²⁺-ATPase (SERCA).^{20,21}

Sinyal Ca²⁺ di Neuron. Sel neuron mempunyai banyak kanal Ca²⁺ yang berbeda tipe dan fungsi di setiap bagian neuron. Tipe N dan P/Q dari VOC di post sinap merangsang pelepasan neurotransmitter. Tipe L VOC di badan dan proksimal dendrit adalah bagian yang menyediakan sinyal Ca²⁺ yang menginduksi aktivasi gen. Kanal ini juga berfungsi sebagai filter kinetik untuk merespon lebih efektif depolarisasi di ujung sinap. Sinyal Ca²⁺ di ujung sinap bertanggung jawab pada modifikasi awal yang berkaitan dengan belajar dan memori, masuk melalui reseptor VOCs dan ROCs serta yang dikeluarkan dari RYRs dan InsP₃Rs. InsP₃Rs sensitif terhadap InsP₃ dan Ca²⁺, sehingga dapat dijadikan detektor terhadap aktivitas stimuli pre dan post sinap. Pada neuron hipokampus, aktivitas elektrik menghasilkan masuknya Ca²⁺ melalui VOCs, kemudian bersama

InsP₃ yang diproduksi oleh reseptor glutamat akan menghasilkan pelepasan Ca²⁺ internal. Sinyal Ca²⁺ yang diinduksi oleh glutamat bekerja di post sinap untuk proses LTP (*long term potentiation*) dan LTD (*long term depression*) (gambar 3).^{22,23}



Gambar 3. Sinyal Ca²⁺ di neuron.²²

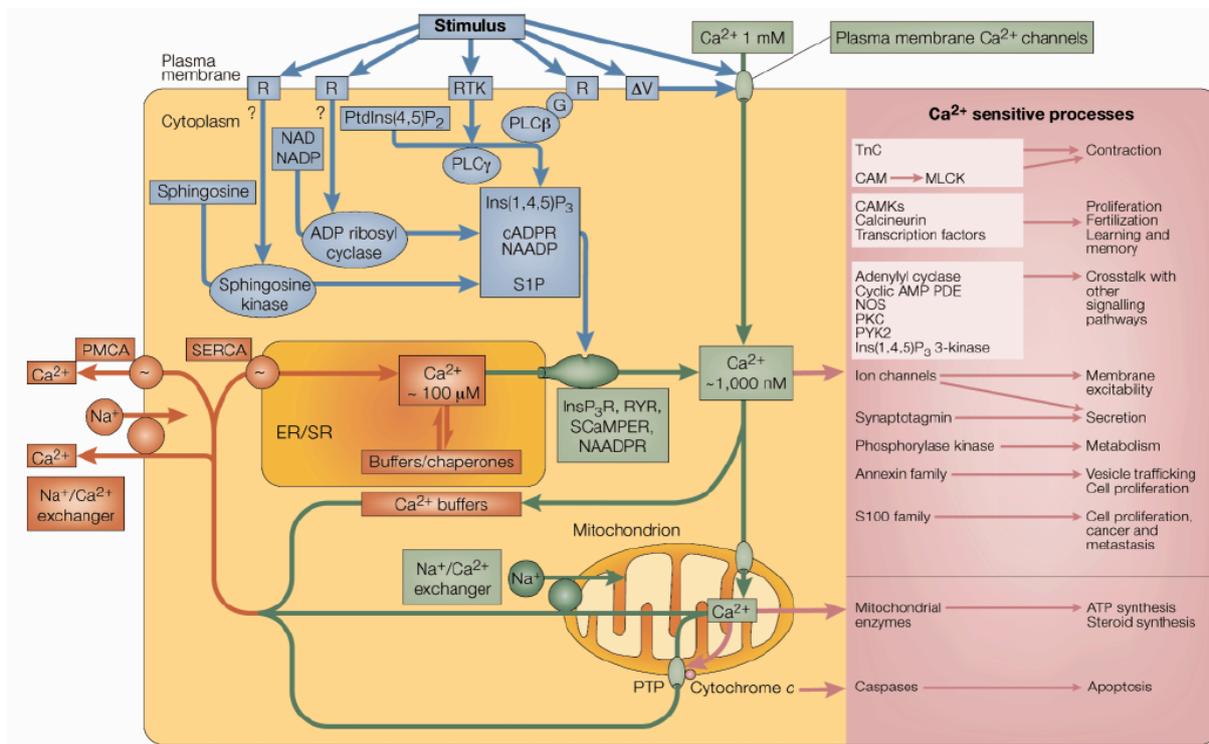
Elemen Sinyal Ca²⁺. Sel mempunyai banyak elemen sinyal Ca²⁺ intrasel dengan berbagai tujuan yang spesifik. Pergerakan Ca²⁺ (panah biru) (gambar 4) dimulai dari stimulus di reseptor permukaan, termasuk reseptor protein G dan reseptor tirosin kinase (RTK).

Stimulus ini kemudian membentuk sinyal yang melibatkan InsP₃ akibat hidrolisis dari PtdIns(4,5)P₂ oleh enzim fosfolipase C (PLCβ, PLCγ), cADPR dan NAADP yang keduanya dibentuk dari NAD dan ribosil siklase ADP, dan juga SIP. Mekanisme ON (hidup) (garis hijau) melibatkan kanal Ca²⁺ di membran sel yang meneruskan stimulus ke transmitter atau terjadi depolarisasi membran (ΔV), juga kanal Ca²⁺ intrasel termasuk disini adalah InsP₃R dan reseptor rianudin (RyR) serta melibatkan reseptor NAADP dan ScaMPER. Mekanisme ON akan meningkatkan konsentrasi Ca²⁺ yang akan mengaktifkan berbagai sensor Ca²⁺ (warna ungu) di berbagai sel yang berbeda dengan tujuan yang spesifik. Mekanisme OFF (mati) (garis merah) dengan memakai pompa Ca²⁺ mengeluarkan Ca²⁺ dari sitoplasma keluar sel, pompa SERCA memasukkan Ca²⁺ kembali ke ER/SR, dan dengan buffer mengikat Ca²⁺ di sitoplasma.²²

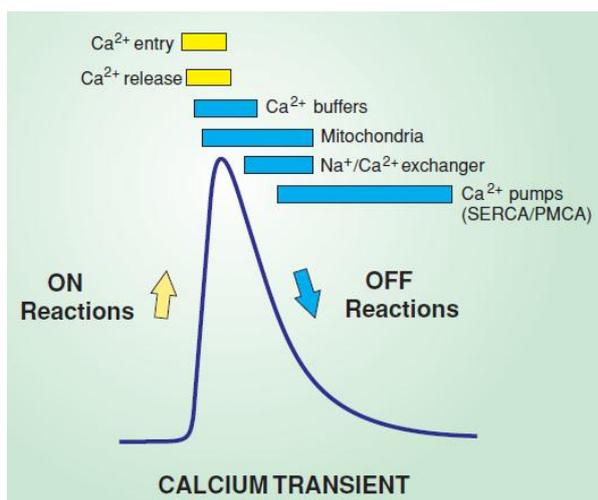
Naiknya konsentrasi Ca²⁺ merupakan hasil dari mekanisme aktivasi masuk dan keluarnya Ca²⁺ (kotak/warnakuning), yang kemudian diakhiri oleh proses inaktivasi. Sekali reaksi ON tidak aktif, serangkaian reaksi OFF beroperasi secara sekuensial untuk mengembalikan Ca²⁺ ke dalam tingkat istirahat tingkat (kotak/warna biru)(gambar 5).

Selama fase naiknya Ca²⁺, sebagian besar Ca²⁺ dengan cepat terikat pada buffer Ca²⁺ (calbindin D-28k dan parvalbumin) dan diambil oleh mitokondria. Buffer mitokondria dan sitosol

membantu membentuk sinyal Ca²⁺ dengan mengurangi dampak dari reaksi ON. Akibatnya, memungkinkan sel untuk menghasilkan transien sangat cepat tanpa risiko kelebihan Ca²⁺.⁵



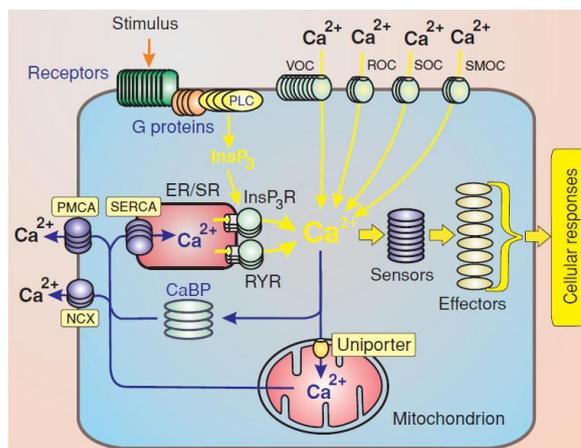
Gambar 4. Elemen-elemen sinyal dari Ca²⁺.²²



Gambar 5. Urutan reaksi ON dan OFF selama terjadinya generasi dari Ca²⁺.⁵

CICR (*calcium-induced calcium release*) menyebabkan dilepaskannya Ca²⁺ dari tempat penyimpanannya yaitu retikulum endoplasma (ER) (gambar 5). Kanal yang sensitif dengan Ca²⁺ yaitu reseptor rianodin (R) dan reseptor InsP₃ (I) berada di ER. CICR mempunyai dua tahapan, yaitu yang pertama adalah transfer sinyal dari membran plasma ke reseptor kanal di ER, dimulai dari terbukanya kanal VOC akibat depolarisasi di

membran plasma kemudian Ca²⁺ akan masuk, berdifusi lalu mengaktifasi reseptor R dan I, yang kedua adalah bersama proses tadi Ca²⁺ akan dilepaskan dari satu kanal ke kanal sebelahnya untuk melepaskan Ca²⁺ lagi sehingga akan timbul gelombang Ca²⁺ yang akan meningkatkan konsentrasi Ca²⁺ dalam sitosol. Naiknya konsentrasi Ca²⁺ sitosol akan mengaktifkan sistem ON sehingga mengaktifkan sinyal intraseluler (gambar 6).⁵



Gambar 6. Ringkasan komponen utama yang berkontribusi terhadap sinyal Ca²⁺.⁵

SIMPULAN

Sinyal Ca²⁺ adalah salah satu sistem sinyal utama di dalam sel dan sinyal Ca²⁺ ini berfungsi untuk mengatur banyak proses seluler. Mekanisme dasar dari sinyal Ca²⁺ relatif sederhana dalam hal ini tergantung pada peningkatan konsentrasi ion intraseluler. Dan pengaturan konsentrasi Ca²⁺ melalui berbagai cara yaitu ikatan Ca²⁺-protein intraseluler, ikatan dengan kalmodulin, kanal Ca²⁺, pompa Ca²⁺, pertukaran Ca²⁺-sodium, buffer Ca²⁺, serta peran mitokondria dan retikulum endoplasma dalam sinyal Ca²⁺.

DAFTAR PUSTAKA

1. Krebs, Joachim. Calcium Biochemistry, in Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine. Edited by Robert A. Meyers. 2nd Ed. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. 2004.p133-70.
2. Kumar V, Abbas AK, Fausto N and Mitchell R. Cell Injury, Cell Death, and Adaptations in Robbins Basic Pathology. Saunders/Elsevier. 8th Ed. 2007. p1-30.
3. Fernyhough, P and Calcutt, NA. Abnormal calcium homeostasis in peripheral neuropathies. Cell Calcium. 2010;47(2):130-9.
4. Maria-Luisa Lazo de la Vega-Monroy and Cristina Fernandez-Mejia. Beta-Cell Function and Failure in Type 1 Diabetes in Type 1 Diabetes – Pathogenesis, Genetics and Immunotherapy edited by David Wagner. Published by InTech. 2011.p93-126.
5. Berridge, MJ. Module 2 Cell Signalling Pathways dalam Cell Signalling Biology, Portland Press Limited. 2009. Hlm.1-118.
6. Alberts, Bruce. Mechanisms of Cell Communication, in Molecular Biology of The Cell, 5th ed., Garland Science, Taylor and Francis Group. 2008. Hlm.879-964.
7. Kuhn S, Bussemer J, Chigri F, Vothknecht UC. Calcium depletion and calmodulin inhibition affect the import of nuclear-encoded proteins into plant mitochondria. Plant J. 2009;58(4):694-705.
8. Chakrabarti G, McClane BA. The importance of calcium influx, calpain and calmodulin for the activation of CaCo-2 cell death pathways by Clostridium perfringens enterotoxin. Cell Microbiol. 2005;7(1):129-46.
9. Zheng F, Soellner D, Nunez J, Wang H. The basal level of intracellular calcium gates the activation of phosphoinositide 3-kinase-Akt signaling by brain-derived neurotrophic factor in cortical neurons. J Neurochem. 2008;106(3):1259-74.
10. Weiss N. The N-type voltage-gated calcium channel: when a neuron reads a map. J Neurosci. 2008; 28(22):5621-2.
11. Martin D, Bootman, Llewelyn R, Rodney O, and Michael JB. Intracellular Calcium Signaling, in Handbook of Cell Signaling. Edited by Bradshaw, Ralph A., Dennis Edward A. Elsevier Science (USA). 2003. p51-61.
12. Brini M, Carafoli E. Calcium pumps in health and disease. Physiol Rev. 2009;89(4):1341-78.
13. Brini M, Cali T, Ottolini D, Carafoli E. The plasma membrane calcium pump in health and disease. FEBS J. febs. 2013.
14. Riedel MJ, Baczkó I, Searle GJ, Webster N, Fercho M, Jones L, et al. Metabolic regulation of sodium-calcium exchange by intracellular acyl CoAs. EMBO J. 2006;25(19):4605-14.
15. Yang YC, Fann MJ, Chang WH, Tai LH, Jiang JH, Kao LS. Regulation of sodium-calcium exchanger activity by creatine kinase under energy-compromised conditions. J Biol Chem. 2010;285(36):28275-85.
16. Higgins ER, Cannell MB, Sneyd J. A buffering SERCA pump in models of calcium dynamics. Biophys J. 2006;91(1):151-63.
17. Foehring RC, Zhang XF, Lee JC, Callaway JC. Endogenous calcium buffering capacity of substantia nigral dopamine neurons. J Neurophysiol. 2009;102(4):2326-33.
18. Chinopoulos C, Adam-Vizi V. Calcium, mitochondria and oxidative stress in neuronal pathology. Novel aspects of an enduring theme. FEBS J. 2006;273(3):433-50.
19. Brisac C, Téoulé F, Autret A, Pelletier I, Colbère-Garapin F, Brenner C, et al. Calcium flux between the endoplasmic reticulum and mitochondrion contributes to poliovirus-induced apoptosis. J Virol. 2010;84(23):12226-35.
20. Verkhatsky A, Solovyova N. Alterations in the Function of Endoplasmic Reticulum and Neuronal Signalling. Neurophysiology. 2002;34(2-3):112-17.
21. Verkhatsky, Alexei. Physiology and Pathophysiology of the Calcium Store in the

-
- Endoplasmic Reticulum of Neurons. *Physiol Rev.* 2005;85: 201-79.
22. Berridge MJ, Lipp Peter and Bootman MD. The versatility and universality of calcium signalling. *Nature Reviews.* 2000;1:11-21.
23. Rosenberg SS, Spitzer NC. Calcium signaling in neuronal development. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011;3(10):a004259.