

ИЗУЧЕНИЕ ЭВОЛЮЦИИ Кальциевой СИГНАЛИЗАЦИИ В РАБОТАХ ВЕЛИКИХ ФИЗИОЛОГОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ТИППМК, НИИ гастроэнтрологии, с/с лаборатория, лаборатория и/б

Актуальность

Мозг - уникальное устройство, в котором электрические сигналы взаимодействуют с молекулами, внося в них изменения. Изменения в молекулах приводят, в свою очередь, к изменению электрических сигналов иона кальция - основной привод такого взаимодействия.

Изучение роли макро-микроэлементов в физиологических процессах организма человека и животных издавна привлекает внимание исследователей и особое место в этом занимают ионы Ca^{2+} . Содержание кальция (Ca) в различных тканях человеческого организма бывают разнонаправленными. Выявление этого важного иона в организме в норме - повышенной концентрацией или, наоборот, пониженной указывает на развитие патологии, что необходимо учитывать в повседневной работе врачей.

Цель исследования

Раскрыть историю открытия этого элемента, эволюционного значения в развитии физиологических процессов, форму действия, его каналы и вредность для организма.

Результаты исследования

Еще в начале XIX века после открытия кальция, как неорганического элемента (Дэви, 1808), была установлена его роль в формировании костей млекопитающих, а также других минерализованных тканей, встречающихся в биологическом многообразии животного мира [24]. Открытие неорганического элемента обратило на себя внимание исследователей, и первым был выдающийся английский физиолог Синдей Рингер (S. Ringer). Он обнаружил, что изолированное сердце лягушки намного лучше выживает, сохраняя сократительную активность в водопроводной воде, по сравнению с дистиллированной. Оказалось, что причина столь "животворного" действия воды из лондонского водопровода - высокое содержание в ней кальция. Отсюда выяснилось, что кальций - это не только составляющая минерализованных тканей, но и фактор, который участвует в мышечном сокращении [27].

Следующий этап в понимании роли кальция случился уже в 40-х годах прошлого века, когда Л.Хейльбрин (L. Heilbrunn), Катц (Katz V., 1966) ввели кальций внутрь мышечных волокон через их обрезанные концы и таким

образом вызвали мышечное сокращение [25]. В 1942 году, объясняя механизм мышечного сокращения, показав роль актана и миозина, К.Бейл (K. Veilly) характеризовал этот феномен, показав, что АТФ-азная активность миозина наступает под действием кальция [23].

В 1959 году О.Леви (O. Laewy) первым открыл и показал о медиаторной роли "ацетилхолина". Возник ряд предположений, что открытие неорганического элемента кальция - "значит все решено"! Однако, чтобы это установить, потребовалось более десятилетий научных исследований. Стали умножаться данные о ключевой роли кальция в регуляции активности множества ферментов, в том числе и механизмов, управляющих клеточной смертью [26].

Появились сведения об энергозависимом накоплении кальция в саркоплазматическом ретикулуме и митохондриях. В этот период Бернард Кац и соавторы выдвинули "концепцию кальциевой проницаемости клеточных мембран", то есть участия кальция в электрогенезе и нейросекреции (в том числе и секреции нейромедиаторов).

Первое прямое измерение кальциевого тока было сделано Фэттом и Гинсборгом в 1958 году на мышечных клетках ракообразных. (P. Fatt and B. Ginsborg) [30]. Мышечные волокна ракообразных обладают мощной системой кальциевой проводимости и не способны генерировать натриевый потенциал действия, что и позволило С.Хачиваре (S. Hagiwara) произвести первое описание свойств кальциевой проводимости. Но в то же время А.Ходжкин (A. Hodgkin) и соавторы показали, что кальциевая проницаемость гигантского нервного волокна не способна внести заметный вклад в электрогенез, связанный с передачей нервного импульса [29].

Выяснение этого вопроса было задачей мировой науки. Доказать, снабжены ли нервные клетки механизмами кальциевой проводимости? Исследовались гигантские аксоны, мышечные волокна, синапс, не говоря уже о том, что концепция кальциевых каналов была в самом зародыше.

Проявив подлинное научное дальновидение, Платон Григорьевич Костюк увлекся этой проблемой. П.Г. Костюк - выдающийся

украинский ученый в области физиологии, биофизики, медицины, талантливый организатор науки и известный общественный деятель. Он проводил исследования в области нейрофизиологии, молекулярной биологии и клеточной биофизики. Он впервые в восточной Европе создал и внедрил оборудование для микроэлектродной техники, которое впоследствии широко применялось для исследований активности нервной клетки и нервных центров. Благодаря этим открытиям, отечественная нейрофизиология заняла ведущее место в мировой науке.

Огромный вклад П.Г. Костюка и его сотрудников (В.И. Пидопличко, О.А. Крышталя) в том, что ими раскрыта роль гомеостаза ионов кальция в нервных клетках и в изучении нарушений при некоторых формах патологий мозга - ишемии/гипоксии, нейропатиях, вызванных сахарным диабетом, эпилепсии, болезни Альцгеймера и др.

Исследуя на молекулярном уровне процессы в работающем нейроне, была показана важнейшая роль ионов кальция как в норме, так и патологических процессах [22].

В своих исследованиях Е.П. Костюк экспериментально показал изменение внутриклеточного гомеостаза ионов кальция в моделях, где были использованы клетки гиппокампа, которые культивировали В-амилоидом (модель болезни Альцгеймера). На основании полученных результатов выяснилось, что возвращение уровня кальция к базальному указывает на накопление кальция в митохондриях или изменения в функции митохондриальных обменников. Однако, если митохондрии не способны быстро поглощать кальций в процессе клеточного возбуждения, это может привести к необратимым патологическим изменениям и гибели нейронов. Эти данные показывают, что изменения в кальциевой обменной функции митохондрии в протекании нейропатии при сахарном диабете и болезни Альцгеймера очень похожи. Изменяется функция митохондрий и эндоплазматического ретикулума аналогичным образом в периферических и центральных нейрональных системах [6].

Весомый вклад в эволюцию кальциевой сигнализации в нервной клетке, внесенный П.Г. Костюком, получил мировой резонанс. В частности, определены факторы, присутствие которых в искусственной внутриклеточной среде обеспечивает функцию кальциевых каналов (знаменитый "коктейль Костюка", совместно с С.А.Федуловой и Н.С.Веселовским, 1981). Своими исследованиями Я.М. Шуба, А.Н.Савченко, П.Г. Костюк смогли доказать существование нескольких

типов кальциевой проводимости, на основе которых заложена современная классификация типов кальциевых каналов (1985, 1988).

В исследованиях Е.Е. Никольского (2011г.) указаны типы потенциал-зависимых Ca^{2+} каналов. Для выявления типов потенциал-зависимых кальциевых каналов, представленных в синапсах лягушки, крысы и мыши, был проведен иммуногистохимический анализ с использованием поликлональных антител против основных каналообразующих субъединиц. Выявлено с помощью лазерных сканирующих конфокальных микроскопов (Cari Zeiss, Germany) типы Ca^{2+} каналов: Ca 2.2, Ca 2.1, Ca 1.3, Ca 2.3. В работе обсуждается возможная роль кальциевых каналов разных типов в регуляции количества выделяемых квантов и временного хода процесса нейросекреции [10].

О наличии Ca^{2+} каналов и их роли в процессе освобождения медиаторов из двигательного нервного окончания холоднокровных стало известно по проведенным исследованиям Л.Ф. Нуруллина (2011). Известно, что Ca^{2+} выполняет роль вторичного посредника, при участии которого запускаются и регулируются многие клеточные процессы. Ионы Ca^{2+} , входящие через различные типы Ca^{2+} каналов, могут активировать Са-зависимые ферменты, усиливать экспрессию генов, запускать освобождение медиатора и т.д. Известно, что экзоцитоз везикул в двигательных нервных окончаниях лягушки инициируется при участии потенциал-зависимых Ca^{2+} каналов Ca 2.2 типа (N-тип), что обнаружено с применением электрофизиологических методов [13].

Исследования Б.С. Жорова из Кандского университета (2011) расширяют знания о роли ионов металлов в физиологии и механизмах действия физиологически активных веществ. Ионные каналы в мембранах клеток являются мишенями для множества физиологически активных веществ (лигандов), включая природные токсины, наркотические вещества и лекарственные препараты, используемые для облегчения боли и лечения сердечно-сосудистых, неврологических, аутоиммунных и др. заболеваний.

С помощью рентгеновской кристаллографии в биохимической лаборатории, руководимой Б.С. Жоровым, были изучены структуры ионных каналов в их открытых, закрытых и инактивированных состояниях [5].

После опубликования работы Е.Е.Никольского о типах Ca^{2+} каналов выявлялись высоко пороговые и низко пороговые каналы, к которым относится кальциевый канал (I- типа). Е.В. Носаль (2011) изучал реакции

кальциевых каналов на химический элемент "никель", который считается селективным блокатором. Как показал автор, три канала подтипа Т-каналов, Cav 3.1, Cav 3.2 и Cav 3.3, обладают различной чувствительностью к действию "никеля". Оказалось, что канал Cav 3.2 в 50 раз более чувствителен к Ni²⁺, чем Cav 3.1 и Cav 3.3. Были исследованы и сравнены чувствительность к Ni²⁺ Cav 3.1 канала с его мутантом [12].

Д.В. Гордиенко (2011) в своих исследованиях показал симпатический контроль и ауторегуляции кровообращения почки, вызывая сокращение гладкомышечных клеток (ГМК) кровеносных сосудов путем увеличения внутриклеточной концентрации ионов Ca²⁺. Хотя в настоящее время общепринято, что Ca²⁺, сигнальная система мышечных клеток состоит из микродоменов, а Ca²⁺ ответов на стимуляцию "P2X" рецепторов, остаётся слабо исследованной [4].

В своих исследованиях В.М. Студенкин и др. (2005) указали на то, что наряду с другими микро-макроэлементами Ca играет значительную роль в нейрофизиологических процессах, а именно он участвует в регуляции тонуса симпатической и парасимпатической нервной систем, тем самым Ca является важнейшим химическим компонентом нервной ткани. Благодаря иммунологической активности, кальций вовлекается в процесс активации лимфоцитов и реакции бластной трансформации. Однако в организме есть конкурирующие элементы, которые могут препятствовать или, наоборот, способствовать реализации Ca-зависимых процессов [15].

Изучая корреляцию концентрации свободного кальция (Ca²⁺)_i в одиночной пресинаптической терминали культивируемых нейронов гипокампа крыс с постсинаптической γ-аминомасляной кислотой (ГАМК) индуцированными токами, пришли к выводу, что увеличение кальция (Ca²⁺)_i внутри терминали является необходимым, но не достаточным условием для выброса нейромедиаторов из везикулы Н.С.Веселовский (2005) [2].

Многочисленные исследования, проводимые в разных мировых научных лабораториях, свидетельствуют о том, что макроэлемент кальция (Ca²⁺) имеет широкую сферу действия. В.М. Студенкин с соавт. (2005) показывают причины изменения содержания кальция в человеческом организме вследствие физиологических процессов, что необходимо учитывать в повседневной работе врачей.

Так, например, физиологические изменения содержания кальция в сыворотке крови, чаще повышение концентрации данного важ-

нейшего макроэлемента, ограничиваются умеренными изменениями. Но для определения кальция в моче в настоящее время используют более точный диагностический тест кальций-креатининового отношения (ККО), поскольку последний не зависит от приема пищи и ряда других экзогенных факторов.

Повышение и понижение содержания кальция в сыворотке крови являющееся нефизиологическим (патологическим) явлением, что изучено В.М. Студенкиным с соавторами (2005), которые в своих исследованиях указывают на ряд заболеваний, связанных с повышением концентрации кальция: первичный гиперпаратиреоз, семейный гиперпаратиреоз, гипервитаминоз Д, множественный миеломатоз, отложения в костях (карциномоподобные образования) и ряд других.

Патологическая кальцитония в различных физиологических жидкостях и тканях организма не редкость и является диагностически значимым лабораторным симптомом (В.М. Студенкин, 2005).

Проводилось изучение соотношения биодиаминов в структурах селезенки при воздействии кальция на организм с питьевой водой. Выявили, что при водном воздействии кальция снижена модуляция гистамина в клеточных структурах селезенки [3].

Увеличение внутриклеточной концентрации ионов кальция [Ca²⁺]_i является ключевым событием, приводящим к сокращению всех типов гладкомышечных клеток (ГМК). АТФ, активирующий постсинаптические P2X рецепторы ГМК, является одним из основных нейротрансмиттеров, которые осуществляют симпатический контроль диаметра кровеносных сосудов. Понятно, что симпатическая активность является важным рефлексом, стабилизирующим системное кровяное давление во время физических нагрузок/упражнений. Обсуждая полученные результаты, они показали механизмы, вызывающие увеличение [Ca²⁺]_i при активации "P2X" рецепторов в ГМК мезентериальных артерий. Понимание этого механизма имеет важное физиологическое значение. В работе был использован лазерный конфокальный микроскоп, с помощью которого исследовали вход Ca²⁺ в клетки и его освобождение из внутриклеточных депо. Исследования проводились на морских свинках [19].

А.С. Тер-Маркосян и др. (2011) в своих исследованиях показали участие кальциевого канала в механизме действия гормона на сократительную активность сердца. Возможности участия низкороговых кальциевых каналов (CaV3) в молекулярных механизмах смещений болевого порога (БП) при перифе-

рической диабетической нейропатии (ПДН) исследовались учеными международного центра молекулярной физиологии - НИИ им. Богомольца [21].

Известно, что возбуждения в синапсах ЦНС обеспечивают инотропные рецепторы глутамата NMDA - типа, каналы которых обладают высокой проводимостью для ионов Ca^{2+} и кальциевых сигналов П.А. Абушик (2011). Д.А. Сибаров (2011) в своих исследованиях показал, что внутриклеточная концентрация Ca^{2+} в пресинаптических окончаниях прямо определяет интенсивность выброса синаптических везикул и интенсивность возбуждающей синаптической активности в нейронной сети в культуре нейронов при действии агонистов глутаматных рецепторов [1].

О функциональной роли ионов кальция через ионные каналы, как основного компонента одной из систем внутриклеточной сигнализации, было продемонстрировано в работе Е.А. Лукьянца [8]. В случаях патологических изменений в организме можно ожидать нарушения в механизмах такой кальциевой сигнализации, приводящих к изменениям функции нервных клеток. К таким патологическим состояниям нервной системы относятся ишемия/гипоксия, эпилепсия и ряд других патологических состояний, которые могут вызывать самые страшные изменения - такое чрезмерное повышение уровня ионов кальция в клетке, которое приводит к ее гибели. В зависимости от уровня гипоксии и её продолжительности клеточная смерть может быть результатом быстрого некроза или более медленных апоптотических процессов, т.е. разрушения клеток. Начальным источником такого повышения уровня кальция в клетке является чрезмерный вход ионов в клетку через мембранные кальций-проницаемые каналы, возникшая при этом деполяризация мембраны также активирует потенциал-управляемые кальциевые каналы.

Также в работе показана роль митохондрий, захватывающих ионы кальция, что приводит к открытию в их мембране пор, через которые в цитозоле освобождается ряд факторов, стимулирующих процесс апоптоза. Эти данные были получены на основе подробного анализа и благодаря проведенным измерениям уровня кальция в цитозоле и внутри клеточных структурах. Взаимодействия таких изменений имеют первостепенное значение для понимания механизмов развития патологических состояний и поиска путей выхода из этого состояния (цитозоль - цитоплазматическая жидкость).

Таким образом, анализируя представленные научные исследования по вопросу каль-

циевой сигнализации, ее каналов и ее роли в организме животных и человека, было установлено следующее.

1. Пути эволюции кальциевых каналов и их многотипность.

2. Вход в клетку Ca^{2+} через кальциевые каналы и воздействие на состояние клетки.

3. Поглощение кальция клеточными структурами как со стороны митохондрий, так и саркоплазматическим ретикуломом, в противном случае излишки кальция приводит к гибели клетки - гибели нейрона, что кончается смертью организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абушик П.А., Большаков А.Е., Сибаров Д.А., Антонов А.С. Особенности внутриклеточного кальциевого сигнала при избирательной активации различных типов рецепторов глутамата в нейронах коры *in vitro*. Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова // Материалы 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина - Здоровье. С. 69
2. Веселовский Н.С., Федулова С.А. Регуляция выброса ГАМК кальциевыми тран-зидентами в одиночной пресинаптической терминали // Материалы 1 съезда физиологов СНГ. Сочи: Медицина - Здоровье, 2005. С. 3.
3. Воронкова О.В., Сергеева В.Е. Изменения люминесценции биоаминов в структурах селезенки при водном воздействии кальция // Материалы 2 съезда физиологов СНГ. Кишинев: Медицина - Здоровье, 2008. С. 160.
4. Гордиенко Д.В. Ca^{2+} - индуцированное высвобождение Ca^{2+} через IP3 рецепторы при активации P2X рецепторов в гладкомышечных клетках резистивных сосудов почки крысы. НИИ имени Богомольца. // Материалы 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина - Здоровье, 2011. С. 74.
5. Жоров Б.С. Комплексы физиологически активных веществ с токнесущими ионами в калиевых, кальциевых и натриевых каналах // Материалы 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина - Здоровье, 2011. С. 31.
6. Костюк Е.П. Роль ионов кальция в протекании болезни Альцгеймера. // Материалы 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина - Здоровье, 2011. С. 39
7. Крышталь О.А. Вклад П.Г.Костюка в парадигму кальциевой сигнализации // Материалы 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина - Здоровье, 2011. С. 3-4.
8. Лукьянец Е.А. Роль ионов кальция в патологических состояниях нервной системы // Материалы 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина - Здоровье, 2011. С. 70-71.

9. Лукьянец Е.А., Пилипок А.О., Аксенчик А.А. Исследование АТФ - индуциро-ванной кальциевой сигнализации в изолированных ноцицептивных DRG нейронах крысы. // Материалы 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина - Здоровье, 2011. С. 73-74.
10. Никольский Е.Е. Потенциал-зависимые Ca²⁺ - каналы разных типов в нервно-мышечных синапсах позвоночных и их вклад в модуляцию процесса нейросекреции // Материалы 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина - Здоровье, 2011. С. 20.
11. Никольский Е.Е. Механизмы регуляции неактивной секреции ацетилхолина в предсердном миокарде крысы // Материалы 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина - Здоровье, 2011. С. 152.
12. Носаль Е.В., Любанова О.П., Шуба Я.М. Модуляция CAV 3.1. Т-типа кальциевых каналов никелем // Материалы 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина - Здоровье, 2011. С. 70.
13. Нуруллин Л.Ф. Анализ наличия потенциал-зависимых Ca²⁺ - каналов CAV 1.2 и CAV 1.3 типов в нервно-мышечном соединении холоднокровных. // Материалы 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина - Здоровье, 2011. С. 58.
14. Сибаров Д.А., Большаков А.Е., Абушик П.А., Антонов А.С. Пресинаптическая кальциевая регуляция частоты спонтанных синаптических токов при действии NMDA или каината // Материалы 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина - Здоровье, 2011. С.72.
15. Студенкин В.М., Николаев А.С. и др. Физиологическая роль кальция в организме// Материалы 1 съезда физиологов СНГ. Сочи: Медицина - Здоровье, 2005. С. 6.
16. Студенкин В.М., Чумакова О.В. и др. Физиологические причины изменения содержания кальция в человеческом организме // Материалы 1- съезда физиологов СНГ. Сочи: Медицина - Здоровье, 2005. С. 149.
17. Студенкин В.М., Шелковский В.И. и др. Нефизиологические причины повышения содержания кальция в человеческом организме // Материалы 1 съезда физиологов СНГ. Сочи: Медицина - Здоровье, 2005. С. 169.
18. Студенкин В.М., Николаев А.С. и др. Нефизиологические причины снижения содержания кальция в человеческом организме // Материалы 1- съезда физиологов СНГ. Сочи: Медицина - Здоровье, 2005. С. 149.
19. Суханова К.Ю., Гордиенко Д.В. Вход Ca²⁺ в клетки и высвобождение Ca²⁺ из внутриклеточных депо при активации P2X рецепторов мезентеральной артерии морской свинки // Материалы 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина - Здоровье, 2011. С. 75.
20. Тер-Маркосян А.С., Арутюнян К.Р., Саакян Е.А., Худавердян Д.Н. Роль кальциевых cAMP в реализации эффекта 1-34-фрагмента паратиреоидного гормона на сократительную активность изолированного сердца. Ереванский государственный медицинский университет им. Мхитара Гераци, Ереван, Армения.
21. Хомула Е.В., Вятченко-Карпинский В.Ю., Белан П.В., Войтенко Н.В. Роль Cav3 и TRPV1 в определении типа болевого синдрома при диабете у крыс// Международный центр молекулярной физиологии, Институт физиологии им. А.А.Богомольца, Киев, Украина.
22. Ченцова И.И., Лукьянец Е.А. Костюк П.Г. Исторические вехи становления учебного // Материалы 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина - Здоровье, 2011. С. 329.
23. Veilly K. (1942). Цитировано из статьи Крышталь О.А. "Вклад П.Г.Костюка в парадигму кальциевой сигнализации".// Матер. 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина-Здоровье, 2011. С.1-2.
24. Дэви (1808). Цитировано из статьи Крышталь О.А. "Вклад П.Г.Костюка в парадигму кальциевой сигнализации". // Матер. 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина-Здоровье, 2011. С.1-2.
25. Katz B. Nerve, Muscle and Synapse. New York: McGraw-Hill, 1966.
26. Laewy O. (1959). Цитировано из статьи Крышталь О.А. "Вклад П.Г.Костюка в парадигму кальциевой сигнализации". // Матер. 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина-Здоровье, 2011. С.1-2.
27. Ringer S. Цитировано из статьи Крышталь О.А. "Вклад П.Г.Костюка в парадигму кальциевой сигнализации". //Матер. 3 съезда физиологов СНГ. Ялта: Медицина-Здоровье, 2011. С.1-2.
28. Heilbrunn LV, Wiercinski FJ. The action of various cations on muscle protoplasm.// J Cell Compar Physl. 1947. Vol. 29. P.15-32
29. Hodgkin AL, Katz B. The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid.// J Physiol-London. 1949. Vol.108. P. 37-77. [Free Full text in PMC: 1392331] [PubMed: 18128147]
30. Fatt P, Ginsborg BL. The ionic requirements for the production of action potentials in crustacean muscle fibres. //J Physiol-London. 1958. Vol.142. P. 516-543. [PubMed: 13576452] [Free Full text in PMC: 1356760]