

УДК 547.963.32

МЕДИЦИНА

Х. С. Саядян, А. В. Зильфян

Эволюция механизмов, обеспечивающих кальциевый гомеостаз.
Эволюция кальцийрегулирующей системы клетки

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР С. А. Мирзояном 13/V 1988)

Все живые существа способны регулировать концентрацию Ca^{+2} во внутри- и внеклеточной среде. У млекопитающих концентрации ионизированного и общего кальция подвержены лишь небольшим колебаниям в пределах 10% (1, 2). Осуществляет эту регуляцию многокомпонентная система, состоящая из механизмов, поддерживающих внутриклеточный кальциевый гомеостаз, и гормонов, обеспечивающих стабильный уровень Ca^{+2} во внеклеточной среде.

В настоящей работе выдвигается положение о многоэтапном развитии системы в процессе эволюции, обеспечивающей внутриклеточный кальциевый гомеостаз.

Более трех миллиардов лет назад, когда образовалась жизнь на Земле, первичный океан был богат ионами K^{+} , Mg^{+2} и $НРO_4^{-2}$ и беден ионами Са и Cl (3). Существует обоснованная концепция о том, почему природа «не смогла удержаться от того, чтоб не нагрузить Са одной ролью за другой» (4). Сравнительный анализ ионов Са с другими ионами, претендующими на подобную роль (и в первую очередь Mg^{+2}), показал, что размеры иона Са и его способность образовывать большое количество связей (до 8) с донорами электронов дают ему неоспоримое преимущество перед другими химическими элементами, в том числе и магнием (5-7). Возможность обратимо, но в то же время достаточно аффинно ($10^{-7} - 10^{-8}M$) связываться с белковыми молекулами (8, 9), изменяя при этом их конформацию (а следовательно, и биологическую активность) позволила Ca^{+2} стать эффективнейшим регулятором функциональной активности белков. Благодаря этому Ca^{+2} оказался вовлеченным в создание большинства «базисных» биохимических реакций в самом начале зарождения жизни на Земле. Концентрация его в первичном океане составляла примерно 0.1 мкМ или $4 \cdot 10^{-6} г/л$ (5, 10). Такая же концентрация Ca^{+2} поддерживается в цитоплазме клеток благодаря многокомпонентной системе, обеспечивающей внутриклеточный гомеостаз Ca^{+2} и состоящий из: 1) цитозольных Са-связывающих белков, которые, с одной стороны, компенсируют быстрое, скачкообразное изменение концентрации иона, а с другой стороны, являются Са-зависимыми регуляторами клеточных функций (11); 2) митохондрий, которые аккумулируют и выдают большое количество Са (6, 11, 12); 3) мембранных белковых комплексов, осуществляющих функцию кальциевого насоса (13). Цитозольные Са-связывающие

звующие белки (тропонин-С, парвальбумин и кальмодулин) имеют высокую гомологию (14). Кальцийсвязывающие сайты белков в высокой степени сходны (так называемая EF связывающая конфигурация) (15), что указывает на общность их происхождения. Первым в процессе эволюции, вероятнее всего, образовался кальмодулин (полипептид из 148 аминокислот с 4 центрами связывания) (14, 16), который оказался вовлечен в регуляцию активности таких основополагающих ферментов, как фосфодиэстеразы циклических нуклеотидов и аденилатциклазы, киназы, фосфорилазы и др. (14, 16–18). Кальмодулин содержится как в животных, так и растительных клетках. Типичная клетка содержит в среднем 10^7 его молекул (около 1 суммарного клеточного белка) (16, 17). Цитозольные Са-связывающие белки функционально активны при колебаниях Ca^{++} в пределах 1–2 мкМ или $4 \cdot 10^{-6}$ г/л, что соответствует концентрации Са в первичном океане 3 миллиарда лет назад (3, 5). Земля в ту геологическую эпоху не была защищена озоновым слоем, поэтому и жизнь развивалась на глубине, где толстый слой воды предохранял от воздействия коротковолнового излучения (3). Температурные изменения на глубинах были невелики, а, следовательно, концентрация Са в воде оставалась практически постоянной. Необходимо отметить, что кроме физических факторов, определяющих среду обитания (температура, освещенность, давление и др.) не менее важными являются также показатели химического состава и, в первую очередь, количественные и качественные соотношения различных физиологически активных ионов. Известно, что для большинства одноклеточных организмов характерно передвижение при помощи ресничек, псевдоподий, жгутиков и др. В основе двигательной активности лежит конформационное изменение определенного класса белков, типа α - и β -тубулина, тропоина, актин-миозина, гельзолина, виллина и др. (19–21). Все эти белки являются Са-зависимыми и эффективно функционируют только при определенной концентрации ионов Са (22–24). Понятно, что при появлении градиента Ca^{++} клетка будет двигаться в сторону оптимума концентрации иона из-за повышения двигательной активности при приближении к оптимуму и наоборот. Действительно, для множества одноклеточных описано передвижение при появлении градиента Ca^{++} (25). Чем выше подвижность клетки, тем больше возможность осуществлять «классический» хемотаксис в сторону как более высоких концентраций аттрактантов (сахаров, аминокислот и др.), так и более низких концентраций репеллентов. Однако этот вид хемотаксиса осуществляется через активацию специфических белковых рецепторов на мембране (26). Эти два вида двигательной активности отличаются друг от друга принципиально по своим механизмам. Таким образом, можно прийти к заключению, что существуют: 1) Са-зависимый хемотаксис (или Ca^{+2} -ионотаксис), направленный на выбор *оптимума* концентрации Ca^{+2} в его градиенте; 2) аттрактантно-репеллентный хемотаксис—в отличие от первого типа («бессознательного») является примитивной разновидностью «разумного поведения» (26), основанного на распознавании белковыми рецепторами «образов» молекул, и направлен на выбор *максимума* или *минимума* соответственно аттрактантов или репеллентов.

Оба эти механизма должны находиться в динамическом равнове-

сии. Причем появление Са-зависимого хемотаксиса в процессе эволюции сыграло важную роль не только в усилении адаптивных свойств клетки, но и явилось важным механизмом в регуляции внутриклеточной концентрации Ca^{++} . Быстрое изменение иона регулировалось внутриклеточными Са-связывающими белками, а Са-зависимый хемотаксис позволял выбирать оптимум в среде обитания, снимая часть «работы» с цитозольных Са-связывающих белков.

С появлением в среднем рифее озонового слоя (около 1200 млн. лет назад) содержание кислорода в атмосфере достигло 0,2%, что обеспечило возможность защищаться от ультрафиолетового излучения уже только метровым слоем воды (27). Началось интенсивное заселение шельфовых зон морей и океанов. Одноклеточным организмам, заселяющим эти зоны, был необходим более эффективный механизм обеспечения кальциевого гомеостаза, так как изменения концентрации ионов здесь были намного резче из-за влияния континентальных пресных вод и сильных температурных колебаний. Вероятнее всего, именно в этот период митохондрии взяли на себя функцию внутриклеточного динамического депо кальция.

Ca^{++} за счет энергии мембранного потенциала переносится в матрикс митохондрий (18), где связывается с фосфатом, образуя нерастворимый гидроксиапатит. Это позволяет накапливать и отдавать большие количества Са за сравнительно малый промежуток времени.

Скорость поглощения Са изолированными митохондриями в физиологических условиях достигает половины максимальной лишь при его концентрации вне митохондрий не менее 25 мкМ, что намного выше нормального внутриклеточного уровня (8-9).

Появление внутриклеточного депо резко расширило возможности адаптации в шельфовой зоне. Однако эта система была эффективна только при экстрацеллюлярной концентрации Са не выше 100 мкМ (3-5). При высоких концентрациях Ca^{++} токсичен в силу использования энергии градиента на свой транспорт а также вследствие полного прекращения синтеза АТФ (8-9) и накопления большого количества нерастворимого гидроксиапатита, приводящего к разобщению ферментативных реакций (3-5).

Когда 600 млн. лет назад за геологически короткий период времени произошло резкое повышение концентрации Са в мировом океане (приблизительно в 10 000 раз) (10-27), возможно, именно отсутствие эффективного механизма регуляции гомеостаза Са явилось причиной гибели вендской флоры и фауны. Выжили в этих условиях те клетки, которые создали в своих мембранах эффективные механизмы, способные поддерживать крутой градиент в 10^4 М.

Появление современных методов измерения внутриклеточной концентрации Ca^{++} (28-31) позволило показать, что механизмы, обеспечивающие Са-гомеостаз клетки, работают взаимосвязанно. Г. Рассму-сеном и П. Баррет была дана схема сопряженного действия кальциевого мембранного насоса, кальцийсвязывающих белков цитоплазмы и транспорта Са в митохондрии (7), причем показана высокая специфичность действия этих механизмов.

Таким образом, обобщая вышеприведенное, можно сказать, что большинство биохимических реакций в клетке объясняется участием

не только самого иона, но и механизмов, обеспечивающих его гомеостаз, в наиболее эволюционно древних метаболических реакциях. Эволюцию Ca-регулирующей системы клетки можно разделить на 4 крупных этапа: 1) появление в архее белковых структур, обладающих высоким сродством к Ca (появление EF-конфигурации); 2) создание механизма Ca-зависимого ионотаксиса (Ca-хемотаксиса); 3) возникновение в рифее митохондриального депо Ca; 4) появление кальцевого насоса на границе венда и кембрия

Появление каждого нового механизма в системе резко расширяло возможности адаптации клетки к изменениям в среде обитания.

Ереванский медицинский институт

Խ. Ս. ՍԱՅԱԴՅԱՆ, Ա. Վ. ԶԻՆՅԱՆ

Կալցիումի հոմեոստազը ապահովող մեխանիզմների ձևաշրջումը
 Բջջի կալցիում-ոնեգուլյուստոր համակարգի ձևաշրջումը

Ներկայացված է վարկած, որտեղ հիմնավորվում է բջջում կալցիումի հոմեոստազի ապահովման մեխանիզմների զարգացումը երկրաբանական հեղաշրջումներին զուգահեռ: Քննարկվում են կալցիումի հետ կապեր ստեղծող սպիտակուցների, միտոքոնդրիանների և թաղանթային Ca-պոմպի առաջացման պայմանները առաջնային օվկիանոսում:

ЛИТЕРАТУРА—ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ J. D. H. Cope, Clinical Endocrinol. Metabol., № 1, p. 21 (1972). ² Э. Мур, в кн.: Ионоселективные электроды. Под ред Р. Дарста, Мир, М., с. 221—279, 1972.
- ³ V. J. Dreier, The Geochemistry of natural waters Prentice Hall, Inc. Englewood Cliffs. № 9, p. 275—276 (1982). ⁴ W. R. Lowenstein, B. Rose, Ann. of N. Y. Acad. Sci., v. 307, № 2, 255—307 (1978). ⁵ Э. Карафолу, Д. Т. Пелингтон, В мире науки, № 1, с. 28—38 (1986). ⁶ E. Carajoli, M. Compton, in: Current Topics in Membranes Transport. C. H. Bourne, J. Danielli (Eds) Acad. Press, v. 10, № 7, p. 151—217 (1978). ⁷ H. Rassmussen, P. Q. Barret, Physiological Reviews, v. 64, № 3, p. 938—984 (1978). ⁸ P. C. Hinkle, R. E. McCarty, Sci. Am., v. 238, № 3, p. 104—123 (1978). ⁹ M. Klengenber, Trends Biochem Sci., № 4, p. 249—252 (1979). ¹⁰ W. S. Broeker, Chemical Oceanography. Harcourt Brace Jovanovich, № 7, p. 214 (1981)
- ¹¹ R. H. Kretsinger, Inter. Rev. Cytology, v. 46, , . 323—395 (1976). ¹² F. R. Bygrave, Biol. Rev., v. 53, № 1, p. 43—79 (1978). ¹³ B. Sarcodi, D. C. Tosteron, in: Membrane Transport in Biology. G. Gleblsch, Tosteron D. C. eds, Springer, Berlin, v. 2, 117—160 (1982). ¹⁴ A. R. Means, J. R. Dedman, Nature, v. 285, № 1, p. 73—77 (1980) ¹⁵ W. J. Cheung, Science, v. 207, № 1, p. 19—27 (1980). ¹⁶ C. B. Klee, T. H. Gronch, P. C. Richman, Ann. Rev. Biochem., v. 49, № 3, p. 489—515 (1980).
- ¹⁷ W. J. Cheung, Sci. Am., v. 246, № 6, p. 49—56 (1982). ¹⁸ R. H. Kretsinger, Neurosci. Res. Programm Bull., v. 19, № 2, p. 213—328 (1981). ¹⁹ B. Katz, Nerve, muscle and synaps. New York, Mc Craw Hill, p. 39—114, 1966. ²⁰ J. M. Murray, A. Weber, Sci. Am. v. 230, № 2, p. 59—71 (1974). ²¹ R. S. Allenstein, E. Eiseberg, Ann. Rev. Biochem. v. 49, № 5, p. 921—956 (1980). ²² K. E. Summer, J. R. Gibbons, Proc. Natl. Acad. Sci. USA v. 68, № 6, p. 3052—3056 (1971). ²³ R. C. Weisenberg, Science, v. 177, № 6, p. 1107—1115 (1972). ²⁴ H. L. Illn, T. P. Stossel, Nature, v. 284, № 2, p. 583—586 (1970). ²⁵ J. Aller, Sci. Am., v. 234, № 4, p. 40—47 (1976). ²⁶ D. E. Koshland, Trends Biochem. Sci., № 5, p. 297—301 (1980). ²⁷ Историческая геология, Недри, М. с. 94—94, 1986. ²⁸ M. O. Atsoy, R. A. Murphy, K. E. Kamn, Am. Physiol., v. 245 (Cell physiol. 14), p. 255—270 (1983). ²⁹ J. R. Blants, W. G. Wier, P. Hess e a., Prog. Biophys. Mol. Biol., v. 40, № 1, p. 1—114 (1981). ³⁰ A. B. Bosle A. W. Snowdowne, Science, v. 217, № 2, p. 252—254 (1982). ³¹ R. I. Tsiou, T. Pozza, T. S. Pink, S. Cell Biol., v. 94, № 2, p. 325—334 (1981).