

РОЛЬ САРКОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА В РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МЫШЦ

А. М. РУБЦОВ

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

ROLE OF SARCOPLASMIC RETICULUM IN THE REGULATION OF MUSCLE CONTRACTILE ACTIVITY

A. M. RUBTSOV

Sarcoplasmic reticulum (SR) – well developed and highly specialized membrane network, plays a key role in the regulation of contractile activity of skeletal, cardiac, and smooth muscles. Ca-release channels (ryanodine receptors) and Ca-ATPase incorporated into SR membranes provide fast release of Ca²⁺ necessary for muscle contraction from SR lumen into cytoplasm and its reaccumulation.

Саркоплазматический ретикулум (СР) – хорошо развитая высокоспециализированная мембранная сеть, играет ключевую роль в регуляции сократительной активности скелетных, сердечной и гладких мышц. Встроенные в мембраны СР Са-каналы (рианодиновые рецепторы) и Са-АТФаза обеспечивают быстрое освобождение необходимого для мышечного сокращения Са²⁺ из внутриретикулярного пространства в цитоплазму и его последующую реаккумуляцию.

www.issep.rssi.ru

В настоящее время не вызывает сомнения огромная роль, которую играют ионы Са²⁺ в регуляции функциональной активности большинства клеток и тканей. В покое концентрация свободного Са²⁺ в цитоплазме составляет ~10⁻⁷ М, а ее повышение до 10⁻⁶–10⁻⁵ М запускает каскад биохимических реакций, в результате которых клетка адекватно отвечает на внешний сигнал. Широко известна роль Са²⁺ в свертывании крови, оплодотворении и развитии оплодотворенной яйцеклетки, в проведении нервного импульса, в экзоцитозе, секреции, разных типах движения клеток и клеточных оргanelл, в том числе и в мышечном сокращении [1]. Основные пути поступления Са²⁺ в клетки из окружающей среды или его освобождения из внутриклеточных источников достаточно универсальны, поэтому исследование молекулярных механизмов, обеспечивающих Са-зависимую регуляцию сократительной активности мышц разных типов, всегда вызывало повышенный интерес.

История изучения этих механизмов похожа на детективный роман. Ключевая роль Са²⁺ как регулятора сокращения мышц была установлена в конце прошлого века в классических опытах английского физиолога С. Рингера, показавшего, что механическая активность сердца резко тормозится при удалении Са²⁺ из внешней среды. В 40-е годы наш соотечественник В.А. Энгельгардт установил, что основной структурный белок мышц миозин обладает АТФазной активностью, а венгерский биохимик А. Сент-Дьерди показал, что гидролиз АТФ актомиозином в присутствии Са²⁺ приводит к мышечному сокращению, причем для расслабления мышечного волокна также необходим АТФ. Расслабление мышц вызывали и комплексоны Са²⁺, например ЭДТА. В начале 50-х годов в одной из фракций гомогената мышц англичане Дж. Бендолл и Б. Марш обнаружили белковый фактор, способный в присутствии АТФ вызывать расслабление мышечных волокон (так называемый расслабляющий фактор Марша). Долгие годы ушли на безуспешные поиски белка, способного АТФ-зависимо связывать Са²⁺ и взаимодействовать с

актомиозином. В конце 50-х годов в гомогенате мышц была найдена еще одна АТФаза, не имеющая отношения к актомиозину, но этот фермент никак не связывали с регуляцией сократительной активности. И только в начале 60-х годов стало ясно, что расслабляющий фактор Марша представляет собой не что иное, как замкнутые в пузырьки фрагменты мембран саркоплазматического ретикулума (СР). Встроенная в мембраны СР Са-АТФаза за счет энергии гидролиза АТФ удаляет Ca^{2+} из цитоплазмы во внутриретикулярное пространство [2]. Так была обнаружена система, ответственная за расслабление мышц.

Сложнее обстояло дело с идентификацией системы, ответственной за увеличение концентрации Ca^{2+} в цитоплазме, за сокращение мышц. Расчеты показывали, что количество Ca^{2+} , входящее в клетки сердечной мышцы из внешней среды, составляет всего несколько процентов от необходимого для полного сокращения, то есть недостающий Ca^{2+} освобождается из внутриклеточных источников, а волокна скелетных мышц в отличие от сердца способны сокращаться в течение десятков минут в условиях полного отсутствия Ca^{2+} в окружающем растворе, и, следовательно, весь необходимый для сокращения Ca^{2+} находится во внутриклеточных источниках. Непонятно было также, каким образом деполяризация плазматической мембраны во время потенциала действия приводит к освобождению Ca^{2+} из внутриклеточных депо.

Предполагалось, что выход Ca^{2+} из ретикулума связан с обращением работы Са-АТФазы СР, однако эта гипотеза не получила экспериментального подтверждения. В 1976 году японские ученые И. Огава и С. Эбаша установили, что определенная фракция пузырьков СР способна освобождать накопленный Ca^{2+} под действием некоторых агентов (кофеин, негидролизующие аналоги АТФ), и постулировали присутствие в них Са-каналов. Поиски этих каналов заняли еще 11 лет, и только в 1987 году усилиями нескольких лабораторий в США Са-каналы СР были идентифицированы и выделены в очищенном виде [3]. Рассмотрим более подробно особенности организации и регуляции активности этих мембранных систем, согласованное функционирование которых обеспечивает мышечное сокращение.

КАЛЬЦИЕВЫЕ КАНАЛЫ (РИАНОДИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ) САРКОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА

СР представляет собой хорошо развитую сеть мембранных цистерн и трубочек эндоплазматического ретикулума, пронизывающую цитоплазму мышечных клеток в непосредственной близости от миофибрилл. В скелетных мышцах СР морфологически разделяется на

два отдела: терминальные цистерны (ТЦ), контактирующие с трубочками Т-системы (ТТ) – впячиваниями плазматической мембраны (ПМ), и продолговатые трубочки, расположенные в центральной части саркомеров (рис. 1, а). С помощью электронной микроскопии было обнаружено, что мембраны терминальных цистерн СР непосредственно соединены с мембранами трубочек Т-системы посредством так называемых соединительных ножек (СН). Терминальные цистерны СР двух соседних саркомеров, связанные соединительными ножками с трубочкой Т-системы, образуют триаду. Фрагменты триад были найдены в тяжелой фракции СР, получаемой с помощью центрифугирования в градиенте плотности сахарозы. Именно в тяжелой фракции СР и были обнаружены Са-каналы. Легкая фракция СР состоит из фрагментов продолговатых трубочек ретикулума и отличается от тяжелой фракции высоким содержанием белка Са-АТФазы.

В кардиомиоцитах сеть СР также хорошо развита, тогда как трубочки Т-системы немногочисленны и плохо выражены. В них практически отсутствуют триады,

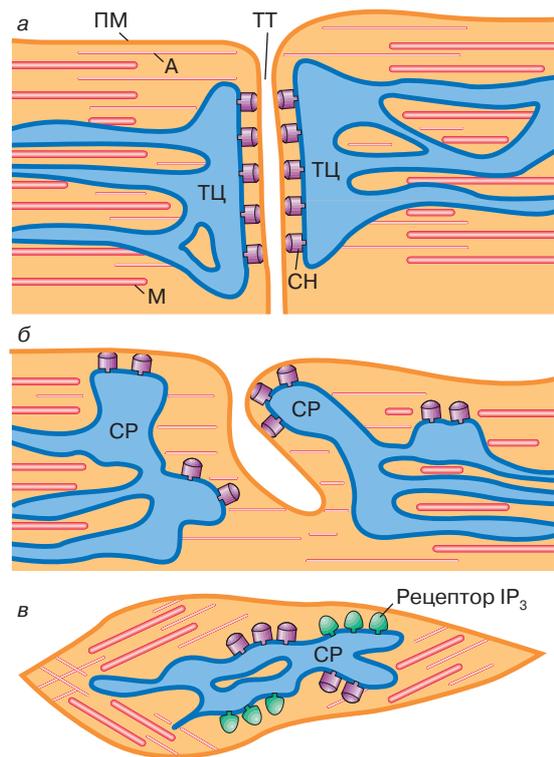


Рис. 1. Схематическое изображение строения саркоплазматического ретикулума (СР) в скелетных (а), сердечной (б) и гладких (в) мышцах. Во всех типах мышц мембраны СР расположены в непосредственной близости от основных белков сократительного аппарата – миозина (М) и актина (А)

но есть многочисленные диады — области контакта СР с ПМ, в которых присутствуют соединительные ножки (рис. 1, б). Соединительные ножки есть и в областях СР, которые не контактируют с ПМ, хотя и располагаются вблизи нее.

В клетках гладких мышц стенок кровеносных сосудов, пищеварительного тракта и матки сеть СР развита значительно слабее, как и сам сократительный аппарат (рис. 1, в). Тем не менее на поверхности мембран СР присутствуют соединительные ножки, хотя их контактов с ПМ не обнаружено. В СР гладких мышц выявлены также рецепторы инозитол-1,4,5-трифосфата (IP₃) [4].

Соединительные ножки СР сразу же привлекли внимание исследователей. Было высказано предположение, что они не только обеспечивают механический контакт между ПМ и СР, но и участвуют в передаче сигнала от ПМ к Са-каналам СР, локализованным именно в терминальных цистернах. В 1985 году было обнаружено, что растительный алкалоид рианодин в концентрации 10^{-9} – 10^{-8} М эффективно блокирует Са-каналы СР, прочно связываясь с неизвестными белками ретикулула, то есть гипотетический рианодиновый рецептор (RyR) участвует в регуляции активности Са-каналов. Уже через два года этот рецептор был выделен из солюбилизованных неионными детергентами мембран тяжелой фракции СР скелетных мышц и сердца. Оказалось, что в состав RyR входит единственный белок с необычайно высокой молекулярной массой (около 560 кДа), а электронная микроскопия показала, что очищенный RyR представляет собой не что иное, как соединительные ножки. Более того, встроенный в искусственные бислоиные липидные мембраны очищенный RyR обладал всеми свойствами Са-каналов нативных мембран СР. Итак, соединительные ножки СР оказались не только рецептором рианодина, но и Са-каналом, обеспечивающим быстрый выброс Са²⁺ из СР в ответ на деполяризацию ПМ [3].

Са-канал СР существует в виде олигомерного комплекса: он состоит из четырех идентичных полипептидных цепей с молекулярной массой >2200 кДа. Согласно данным электронной микроскопии, RyR имеет вид четырехлистника со стороной 27 нм (рис. 2). В мембрану СР погружена базальная платформа RyR, окруженная периферическими долями. От базальной платформы берет начало центральный канал, переходящий в четыре радиальных канала, через которые Са²⁺ выходит в цитоплазму.

Эффективными активаторами Са-каналов СР являются низкие (микромольные) концентрации Са²⁺, АТФ и его аналоги, кофеин, полиамины, ионы тяжелых металлов, жирные кислоты и их производные и некоторые другие соединения. Из ингибиторов Са-каналов СР наиболее известны рианодин, рутениевый

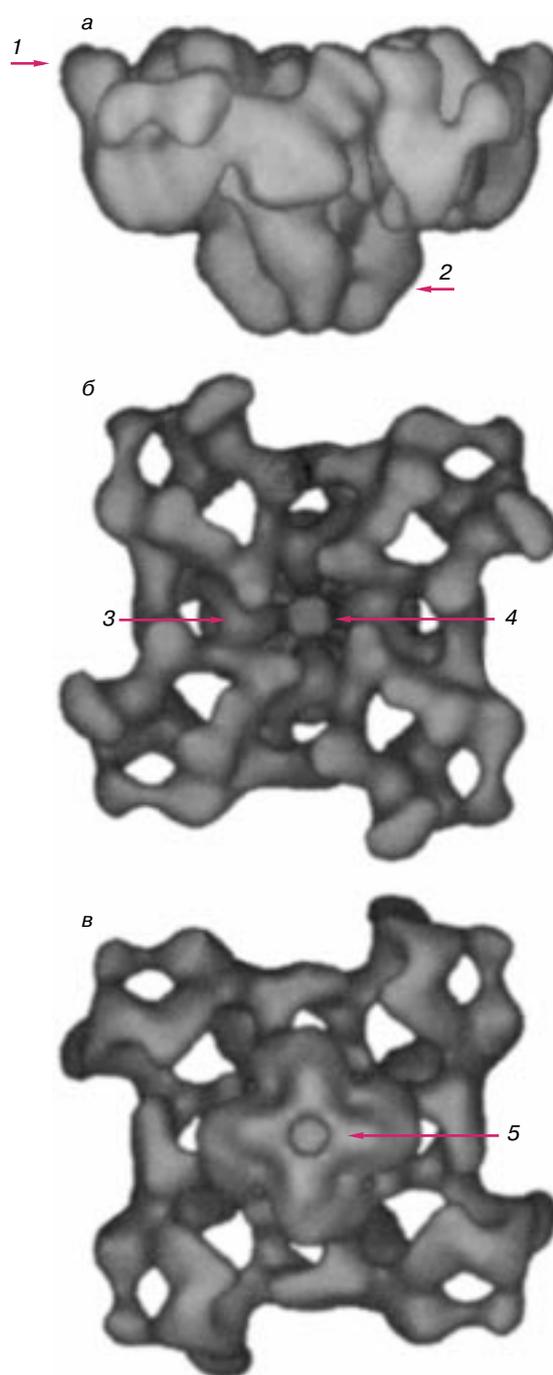


Рис. 2. Трехмерная модель структуры RyR, построенная на основе данных электронной микроскопии высокого разрешения: а – вид сбоку; б – со стороны цитоплазмы; в – со стороны мембраны СР; 1 – цитоплазматический домен; 2 – гидрофобная часть, погруженная в мембрану СР; 3 – радиальный ионпроводящий канал; 4 – центральный ионпроводящий канал; 5 – базальная платформа (по: Wagenknecht et al., с упрощениями)

красный, локальный анестетик прокаин, ионы Mg^{2+} и Ca^{2+} (в миллимолярных концентрациях), а также несколько токсинов полипептидной природы.

Различные изоформы RyR обнаружены у млекопитающих не только в мышцах разных типов и мозгу, но и в почках, печени, легких, поджелудочной железе, надпочечниках, семенниках, яичниках, тонком и толстом кишечнике, в клетках периферической нервной системы, а также в Т-лимфоцитах, нейтрофилах, моноцитах, макрофагах, фоторецепторах и некоторых других клетках и тканях. Это говорит о том, что RyR представляют собой универсальный тип внутриклеточных Ca-каналов и принимают участие в освобождении Ca^{2+} из внутриклеточных компартментов (главным образом эндоплазматического ретикула) во многих, как возбудимых, так и невозбудимых, органах и тканях. В скелетной мускулатуре, сердце и других тканях птиц, амфибий и рыб также обнаружено несколько изоформ RyR.

КАЛЬЦИЕВЫЙ НАСОС САРКОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА

Итак, Ca-каналы CP являются той структурой, которая в ответ на деполяризацию ПМ обеспечивает быстрый массивный выброс Ca^{2+} из ретикула в цитоплазму. Освободившийся Ca^{2+} соединяется с внутриклеточными регуляторными Ca-связывающими белками, приводя к активации или ингибированию различных биохимических реакций (подробнее о Ca-связывающих белках и их функциях см. [5, 6]). В мышечных клетках Ca^{2+} связывается с тропонином С (скелетные мышцы и сердце) или кальмодулином (гладкие мышцы), что приводит к активации актомиозиновой АТФазы и сокращению. Для расслабления необходимо удалить Ca^{2+} из цитоплазмы, снова аккумулировав его в полостях CP (для повторного использования в последующих циклах сокращения—расслабления) или выведя из клетки в окружающую среду. В мышцах разных типов за удаление Ca^{2+} из цитоплазмы при расслаблении отвечает специальный фермент — встроенная в мембраны продолговатых трубочек CP Ca-АТФаза (Ca-насос). Поскольку Ca-АТФазам была посвящена статья [2], кратко остановимся только на основных свойствах и особенностях регуляции активности этого фермента в мышцах разных типов.

Ca-АТФаза CP принадлежит к большому семейству ионтранспортирующих АТФаз Р-типа (или E1–E2-типа), к которому относятся также Ca-АТФаза ПМ, Na, К-АТФаза, H, К-АТФаза слизистой оболочки желудка, некоторые АТФазы беспозвоночных, грибов, растений и бактерий. Свое название это семейство ферментов получило в связи с тем, что в ходе реакционного цикла терминальный фосфат молекулы АТФ переносится на остаток аспарагиновой кислоты в активном

центре АТФаз с образованием фосфорилированного интермедиата фермента (E–P). Это фосфорилирование сопряжено со значительным изменением структуры молекулы фермента (переходом из E1 в E2 конформацию), которое сопровождается переносом транспортируемых катионов через мембрану.

В CP быстрых скелетных мышц присутствует SERCA1 изоформа Ca-АТФазы (аббревиатура английского названия этих ферментов — Sarcoplasmic Reticulum Calcium ATPase). Это белок с молекулярной массой ~115 кДа (рис. 3, а). Молекула Ca-АТФазы состоит из большого обращенного в цитоплазму гидрофильного домена и трансмембранного домена, образованного десятью гидрофобными α -спиральными участками. Гидрофильный домен обеспечивает связывание и гидролиз АТФ, а в трансмембранном домене происходят связывание Ca^{2+} и его перенос через мембрану CP. Сродство Ca-АТФазы CP в E1 конформации к Ca^{2+} с цитоплазматической стороны мембраны очень высоко (~ $5 \cdot 10^{-7}$ М), поэтому в состоянии покоя Ca-АТФаза поддерживает низкую (< 10^{-7} М) концентрацию Ca^{2+} в клетке. Даже незначительное повышение концентрации Ca^{2+} приводит к активации Ca-АТФазы и удалению Ca^{2+} из цитоплазмы внутрь CP. Сродство фермента к Ca^{2+} в E2-конформации (Ca-связывающий центр в этой конформации обращен внутрь CP) значительно ниже (~ 10^{-3} М), поэтому переносимый кальций легко диссоциирует, после чего фермент вновь изомеризуется в E1-конформацию.

Мышечное сокращение становится возможным потому, что из CP через Ca-каналы за короткое время (несколько микросекунд) выбрасывается большое количество Ca^{2+} (градиент концентрации Ca^{2+} на мембране CP составляет ~ 10^4), достаточное для взаимодействия с регуляторными Ca-связывающими белками и активации сократительного аппарата. Благодаря хорошему развитию сети мембран CP и высокому содержанию в них белка Ca-АТФазы (до 80% всех белков в продолговатых трубочках CP) весь освободившийся Ca^{2+} также очень быстро (за 1–2 миллисекунды) полностью удаляется из цитоплазмы.

В CP сердца, медленных скелетных и гладких мышц присутствует другой изозим Ca-АТФазы — SERCA2, близкий по своим свойствам к SERCA1-изоформе. Наиболее важным его отличием от Ca-АТФазы CP быстрых скелетных мышц является то, что эта изоформа прочно связана в мембране CP с регуляторным белком фосфоламбаном, который в норме ингибирует активность Ca-АТФазы. Фосфоламбан представляет собой олигомерный комплекс, состоящий из пяти одинаковых полипептидных цепей с молекулярной массой ~5 кДа каждая (рис. 3, б). В обращенной в цитоплазму N-концевой части молекулы фосфоламбана находятся

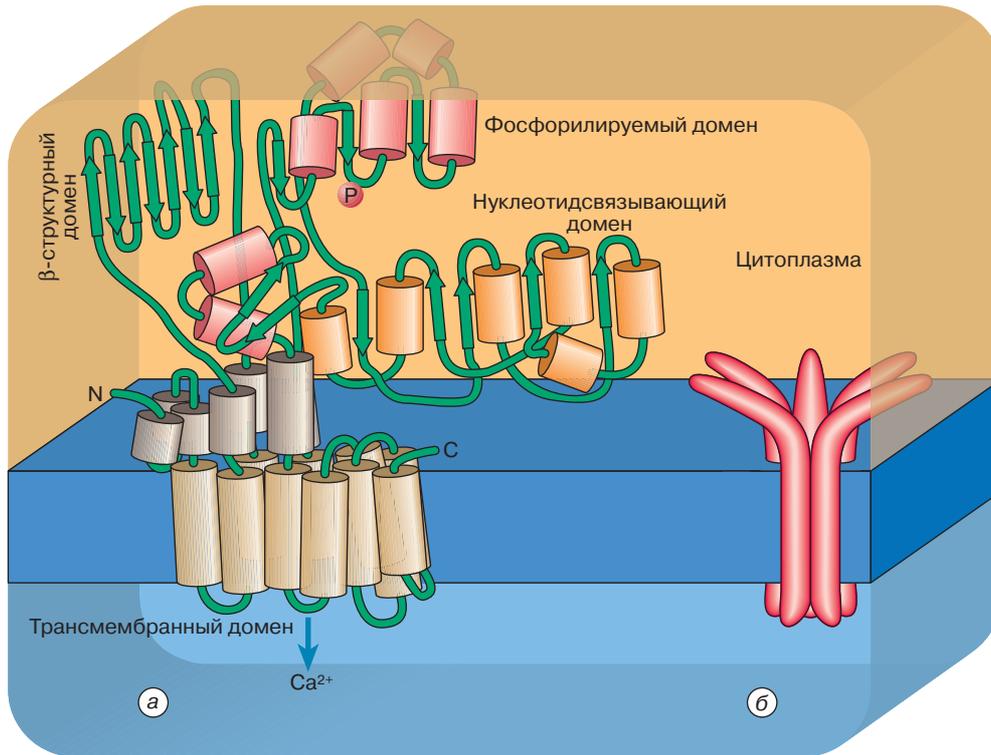


Рис. 3. Предполагаемая модель расположения Са-АТФазы (а) и фосфоламбана (б) в мембране СР

положительно заряженные аминокислотные остатки, ответственные за взаимодействие этого белка с цитоплазматическим доменом Са-АТФазы, а также остатки серина и треонина, которые могут фосфорилироваться цАМФ-зависимой и Са, кальмодулинзависимой протеинкиназами соответственно. Фосфорилирование этих остатков компенсирует положительный заряд цитоплазматического домена молекулы фосфоламбана и нарушает его взаимодействие с Са-АТФазой. По-видимому, в состоянии покоя Са-АТФаза СР сердца и медленных скелетных мышц значительно (но не полностью) ингибирована фосфоламбаном, однако ее остаточной активности достаточно для поддержания низкой концентрации Ca^{2+} в цитоплазме. При повышении концентрации Ca^{2+} фосфоламбан фосфорилируется Са, кальмодулинзависимой протеинкиназой, что приводит к активации Са-АТФазы. Близкая картина наблюдается и при адренергической стимуляции сердца: связывание адреналина с β -адренергическими рецепторами активирует аденилатциклазу, накапливается циклический АМФ, активируется цАМФ-зависимая протеинкиназа, фосфорилируется фосфоламбан, устраняется ингибирование Са-АТФазы СР, что приводит к увеличению сократительной активности миокарда.

Таким образом, мембраны СР — основного депо кальция в мышечных клетках содержат оба компонента, которые необходимы для освобождения этого катиона и его последующей реаккумуляции: Са-каналы (RyR) и Са-АТФазу. Са-АТФаза активируется тем кальцием, который освобождается из ретикулума через Са-каналы и взаимодействует с регуляторными Са-связывающими белками (тропонин С, кальмодулин). Что же служит сигналом для открывания Са-каналов СР и каким образом этот сигнал передается от ПМ к мембранам СР?

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЭЛЕКТРОМЕХАНИЧЕСКОГО СОПРЯЖЕНИЯ В МЫШЦАХ РАЗНЫХ ТИПОВ

Известно, что по сравнению с внеклеточной жидкостью цитоплазма отличается низким содержанием ионов Na^+ (в 10 раз ниже), Cl^- (в 20 раз ниже), Ca^{2+} (в 20 тыс. раз ниже) и высоким содержанием ионов K^+ (в 40 раз выше). Это связано с различной проницаемостью ПМ для этих ионов, но главным образом с работой Na, K-АТФазы и Са-АТФазы ПМ, которые удаляют из цитоплазмы Na^+ (в обмен на K^+) и Ca^{2+} соответственно. Такое распределение ионов по обе стороны мембраны

приводит к появлению на ПМ потенциала покоя, величина которого составляет около -80 мВ (минус внутри клетки).

При стимуляции мышечных волокон в зонах нервно-мышечного контакта из нервных окончаний выделяется медиатор ацетилхолин, который связывается с никотиновыми холинорецепторами, расположенными на ПМ мышечной клетки в области синапса. Эти холинорецепторы являются одновременно Na-каналами, которые открываются при связывании ацетилхолина. При этом в цитоплазму устремляется ток ионов Na^+ (по градиенту концентрации и градиенту заряда) и потенциал на ПМ изменяется от -80 мВ до $+40$ мВ, то есть происходит деполяризация мембраны. Деполяризация ПМ активирует расположенные на всей поверхности клетки потенциалзависимые Na-каналы и распространяется в виде потенциала действия, достигая по трубочкам Т-системы отдаленных участков мышечного волокна. Вслед за этим следует мышечное сокращение. Деполяризация ПМ активирует также потенциалчувствительные K-каналы, через которые из цитоплазмы устремляются наружу ионы K^+ (также по градиенту концентрации и градиенту заряда), и потенциал покоя на ПМ восстанавливается.

Предполагалось, что деполяризация ПМ в области Т-трубочек может по соединительным ножкам передаваться на терминальные цистерны и активировать Са-каналы СР или же изменения концентрации Na^+ и/или K^+ могут вызывать деполяризацию мембраны СР. Однако мембраны СР легко проницаемы для одновалентных катионов и анионов, потенциал на них отсутствует, и даже искусственное создание на них положительного или отрицательного трансмембранного потенциала не приводит к активации Са-каналов СР. Следовательно, необходимо было либо найти какие-то вещества, которые выделяются на внутренней поверхности ПМ при ее деполяризации и активируют Са-каналы СР (химический тип передачи сигнала), либо обнаружить в ПМ белок, который непосредственно контактирует с RyR и изменяет свою конформацию при деполяризации ПМ (конформационный тип передачи сигнала). Сейчас установлено, что оба типа передачи сигнала от ПМ к мембране СР реализуются в разных типах мышц [3, 4].

Белками, изменяющими свою конформацию при деполяризации ПМ, оказались так называемые медленные потенциалчувствительные Са-каналы ПМ L-типа или дигидропиридинчувствительные Са-каналы ПМ [3, 7]. Свое название они получили благодаря способности связывать с высоким сродством различные производные 1,4-дигидропиридина, которые активируют или ингибируют их активность. Эти Са-каналы открываются при деполяризации ПМ, обеспечивая поступ-

ление в цитоплазму мышечных клеток небольших количеств Ca^{2+} из внеклеточной среды.

Са-каналы ПМ являются олигомерными белками. В отличие от RyR Са-каналы ПМ состоят из пяти типов субъединиц ($\alpha 1$, $\alpha 2$, ковалентно связанная S—S-мостиками с δ -субъединицей, β и γ), три из которых гликозилированы (рис. 4, а). Формирующая Са-канал $\alpha 1$ -субъединица является также рецептором дигидропиридинов и “сенсором напряжения” на ПМ. Эта субъединица состоит из четырех трансмембранных доменов, каждый из которых сформирован шестью гидрофобными α -спиральными участками (рис. 4, б). В каждом повторе четвертый α -спиральный участок (показан синим цветом) содержит положительно заряженные аминокислотные остатки и движется перпендикулярно к плоскости ПМ при изменении трансмембранного потенциала. Происходящие при этом изменения конформации молекулы затрагивают и цитоплазматические петли $\alpha 1$ -субъединицы, в том числе и петлю между II и III повторами (выделена жирной линией), которая обеспечивает контакт Са-канала ПМ и RyR в скелетных мышцах. Функции остальных субъединиц Са-канала ПМ окончательно не выяснены. Вероятно, они определяют правильную ориентацию $\alpha 1$ -субъединицы в мембране, регулируют ее чувствительность к мембранному потенциалу и электрические характеристики канала. Кроме того, фосфорилирование этих субъединиц протеинкиназами также изменяет свойства Са-канала ПМ.

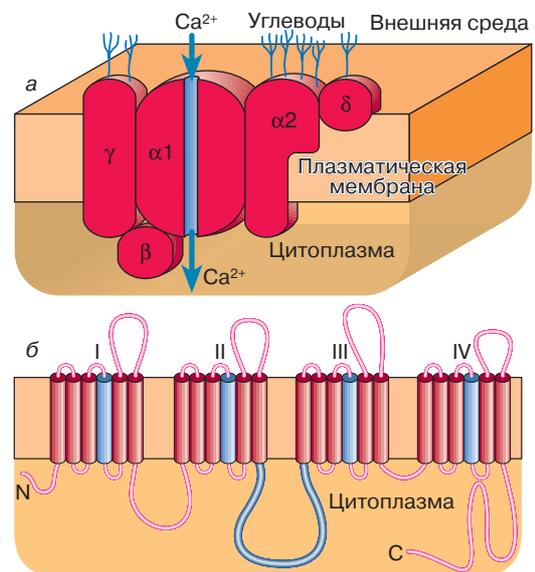


Рис. 4. Структура медленного потенциалзависимого Са-канала ПМ L-типа (а) и предполагаемая модель расположения в мембране его $\alpha 1$ -субъединицы (б) (по: Catterall, с упрощениями и модификациями)

В скелетных мышцах Са-каналы ПМ и Са-каналы СР непосредственно контактируют друг с другом: примерно с половиной молекул RyR (тетрамером) связано четыре молекулы Са-каналов ПМ – так называемая тетрада (рис. 5, а). Наиболее важна для контакта с RyR цитоплазматическая петля между II и III трансмембранными доменами Са-канала ПМ. Изменение структуры этой петли с использованием методов генной инженерии приводит к нарушению передачи сигнала на Са-каналы СР. По всей видимости, в формировании прочного контакта между Са-каналами ПМ и СР участвуют и некоторые другие белки [3]. Кроме того,

нормальное функционирование RyR обеспечивает их взаимодействие с рядом белков: триадином, кальсеквестрином, альдолазой, глицеральдегидрофосфатдегидрогеназой (ГАФД) и некоторыми другими.

Деполаризация ПМ приводит к изменению конформации $\alpha 1$ -субъединицы Са-каналов L-типа, это изменение конформации передается на RyR и приводит к открыванию Са-каналов СР. Важно отметить, что для активации Са-каналов СР не требуется поступления внеклеточного Ca^{2+} в цитоплазму через Са-каналы ПМ, именно поэтому скелетные мышцы способны длительное время сокращаться при отсутствии Ca^{2+} . Мутантные формы Са-каналов ПМ, неспособные пропускать Ca^{2+} через мембрану, но способные потенциалзависимо изменять свою конформацию, обеспечивают передачу конформационного сигнала на Са-каналы СР и нормальное сокращение мышц. Поскольку у большинства животных в быстрых скелетных мышцах не все молекулы RyR в СР непосредственно контактируют с тетрадами Са-каналов ПМ, освобождающийся из СР Ca^{2+} индуцирует активацию этих «свободных» молекул Са-каналов (см. рис. 5, а).

Инактивация и закрытие Са-каналов СР происходит при повышении концентрации Ca^{2+} в цитоплазме и его связывании в ингибирующих центрах Са-каналов. Кроме того, к ингибированию Са-каналов приводит также их взаимодействие с комплексом Ca^{2+} -кальмодулин и/или фосфорилирование Са, кальмодулинзависимой протеинкиназой [3].

В сердце только небольшая часть молекул RyR входит в состав диад и контактирует с ПМ. Более того, в СР сердца не обнаружено прочных контактов RyR с Са-каналами ПМ. Потому в сердце наблюдается несколько иной тип активации Са-каналов СР, который получил название Са-индуцируемого выброса Ca^{2+} . При деполаризации ПМ кардиомиоцитов активируются потенциалчувствительные Са-каналы ПМ и в цитоплазму поступает небольшое количество Ca^{2+} из внеклеточной среды (рис. 5, б). Этого входящего в клетку снаружи Ca^{2+} , который получил название триггерного Ca^{2+} , недостаточно для обеспечения мышечного сокращения, но он активирует Са-каналы СР, через которые из ретикулума освобождается основное количество Ca^{2+} , нужное для сокращения. Именно поэтому присутствие в среде Ca^{2+} необходимо для нормального сокращения сердца. Итак, в сердечной мышце сам Ca^{2+} играет роль посредника и передает сигнал от ПМ к мембране СР.

Следует сказать, что в отличие от скелетной мускулатуры в сердце определенную роль в удалении Ca^{2+} из цитоплазмы при расслаблении наряду с Са-АТФазой СР играют Са-АТФаза и система Na^+/Ca^{2+} -обмена ПМ [1, 2]. Са-АТФаза ПМ отличается от Са-АТФазы СР

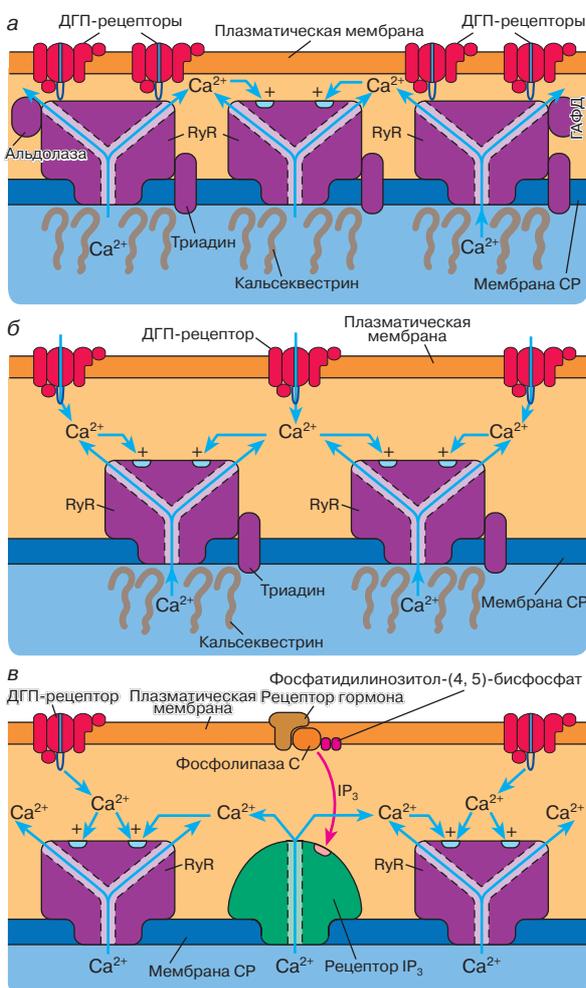


Рис. 5. Схематические модели электрохимического сопряжения, иллюстрирующие механизм прямой передачи конформационного сигнала от Са-каналов ПМ (ДГП-рецептор) на RyR СР в скелетной мускулатуре (а) и механизм Са-индуцируемого выброса Ca^{2+} из СР в сердечной (б) и гладкой (в) мышцах (по: Meissner, Lu, с упрощениями и модификациями)

более высокой молекулярной массой (~140 кДа). Это связано с тем, что на С-конце молекулы Са-АТФазы ПМ расположен дополнительный регуляторный домен, который в покое взаимодействует с активным центром Са-АТФазы и ингибирует фермент (так называемое автоингибирование). Ингибирование снимается при связывании с регуляторным доменом Са-АТФазы Са-связывающего белка кальмодулина, насыщенного Са²⁺ [5, 6]. Таким образом, активность Са-АТФазы ПМ в покое невелика и возрастает только при увеличении концентрации Са²⁺ в цитоплазме и при насыщении им кальмодулина, например, в ходе мышечного сокращения. Система Na⁺/Са²⁺-обмена способна к электрогенному обмену трех ионов Na⁺ на один ион Са²⁺. Вместе с Са-АТФазами СР и ПМ эта система участвует в тонкой регуляции уровня Са²⁺ в кардиомиоцитах.

В гладких мышцах, как и в сердце, происходит Са-индуцируемый выброс Са²⁺, однако в освобождении Са²⁺ из СР участвуют не только RyR, но и рецепторы IP₃ (рис. 5, в). При деполяризации ПМ клеток гладких мышц активируются потенциалчувствительные Са-каналы и входящий через них в цитоплазму Са²⁺ активирует RyR. В то же время сокращение гладких мышц может происходить и без деполяризации ПМ. Так, некоторые гормоны при взаимодействии с соответствующими рецепторами активируют в ПМ фосфолипазу С, которая гидролизует фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат с образованием IP₃ и диацилглицерола [4, 7]. Диацилглицерол активирует протеинкиназу С, а IP₃ связывается со специфическим рецептором на мембране СР, который также является Са-каналом. Выходящий через эти каналы Са²⁺ активирует Са-каналы RyR, вызывая освобождение дополнительных количеств кальция. Рецепторы IP₃, как и RyR, широко распространены в различных клетках и тканях. По всей видимости, в невозбудимых

тканях Са-каналы RyR активируются Са²⁺, освобождаемым через рецепторы IP₃. Кроме того, важную роль в их активации в невозбудимых тканях играет производное НАД-циклическая АДФ-рибоза [4].

Таким образом, СР является ключевым компонентом электромеханического сопряжения в мышцах разных типов. Согласованная работа Са-каналов и Са-АТФазы ретикулума обеспечивает тонкую регуляцию их сократительной активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Левицкий Д.О.* Кальций и биологические мембраны. М.: Высш. шк., 1990.
2. *Владимиров Ю.А.* Кальциевые насосы живой клетки // Соросовский Образовательный Журнал. 1998. № 3. С. 20–27.
3. *Рубцов А.М., Батрукова М.А.* Кальциевые каналы (рианодиновые рецепторы) саркоплазматического ретикулума: Структура и свойства // Биохимия. 1997. Т. 62, № 9. С. 1091–1105.
4. *Ткачук В.А.* Фосфоинозитидный обмен и осцилляции ионов Са²⁺ // Там же. 1998. Т. 63, № 1. С. 47–56.
5. *Гусев Н.Б.* Внутриклеточные Са-связывающие белки. Ч. 1. Классификация и структура // Соросовский Образовательный Журнал. 1998. № 5. С. 2–9.
6. *Гусев Н.Б.* Внутриклеточные Са-связывающие белки. Ч. 2. Структура и механизм функционирования // Там же. С. 10–16.
7. *Авдонин П.В., Ткачук В.А.* Рецепторы и внутриклеточный кальций. М.: Наука, 1994.

Рецензент статьи Н.Б. Гусев

* * *

Александр Михайлович Рубцов, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии биологического факультета МГУ. Область научных интересов – регуляция активности ионных насосов и ионных каналов биологических мембран. Автор и соавтор более 60 научных работ и двух учебно-методических пособий.