

Е.В. Лычковская, А.Н. Шуваев, В.Ю. Ендржеевская-Шурыгина, Р.Я. Оловяникова, А.Б. Салмина

КАЛЬЦИЕВАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ В ЛИМФОЦИТАХ¹Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого, 660022, ул. П. Железняка, 1, тел. 8-(962)-069-74-47, e-mail: lychk-elena@mail.ru, г. Красноярск**Резюме**

В настоящем обзоре показана роль внутриклеточного кальция в функциях лимфоцитов и сигнальной трансдукции. Кальциевые сигналы в клетках иммунной системы участвуют в регуляции процессов дифференциации, транскрипции генов и эффекторных функций.

Ключевые слова: внутриклеточный Ca^{2+} , IP_3 , NFAT.

E.V. Lychkovskaya, A.N. Shuvaev, V.Y. Endrzejewska-Shurygina, R.J. Olovyannikova, A.B. Salmina

CALCIUM SIGNALING IN LYMPHOCYTES

Krasnoyarsk state medical University named after Professor V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk

Summary

In the present review, focuses on the role of intracellular calcium in lymphocyte functions and signal transduction. Calcium signals in cells of the immune system participate in the regulation of differentiation, gene transcriptions and effector functions.

Key words: intracellular Ca^{2+} , IP_3 , NFAT.

Приобретенный иммунитет имеет широкий потенциал для ответных реакций на инфекционные агенты, встречающиеся в течение жизни. Главную роль в реализации этих реакций играют Т лимфоциты. Активация Т клеточных рецепторов имеет большое значение в развитии клеток, пролиферации, клеточной гибели, продукции цитокинов, дифференциации Т клеток и в целом сохранении гомеостаза. Эти функции во многом зависят от регуляции клеточной сигнализации [6, 21]. Ключевым медиатором Т клеточной сигнализации является внутриклеточный кальций (Ca^{2+}), который контролирует многочисленные клеточные процессы. Динамика и характер изменения концентрации Ca^{2+} , в виде распространяющихся волн, когерентных осцилляций активирует физиологические функции лимфоцитов. Амплитуда и пространственно – временной профиль локализуемых сигналов обуславливает экспрессию генов [23]. Механизм, который приводит к экспрессии генов, связан с высвобождением Ca^{2+} через кальций – селективные каналы в плазматической мембране, после истощения внутриклеточных кальциевых депо. Депо – зависимый ток Ca^{2+} в клетки осуществляется за счет активности белков семейства stromal interaction molecule (Stim) и *Orai* [29, 4, 15, 24, 19]. Интеграция белков *Stim* и *Orai* приводит к активации факторов транскрипции NFAT, NF- κ B, AP-1, экспрессии иммуномодулирующих цитокинов и иммунному ответу [10, 1, 3, 4].

Вследствие этого, представляется важным в настоящем обзоре рассмотреть механизмы кальциевой сигнализации в лимфоцитах, способы регуляции транскрипции генов провоспалительных цитокинов.

Активация лимфоцитов

Активация лимфоцитов довольно сложный процесс, в котором осуществляется ряд реакций, приводящих к клеточному делению и дифференцировке.

Ключевым событием в инициации этих реакций является взаимодействие рецепторов лимфоцитов с главным комплексом гистосовместимости на поверхности антиген – представляющих клеток и формирование иммунологического синапса [20]. Иммунологический синапс – это крупная функциональная структура, обеспечивающая адгезию клеток, реорганизацию цитоскелета и передачу сигналов [17]. В результате, индуцируется фосфоинозитол – сигнальный каскад биохимических реакций в плазматической мембране, приводящий к активации адаптерных молекул и тирозинкиназ. Они фосфорилируют и активируют фосфолипазу Ca^{2+} в Т клетках [21]. Фосфолипаза Ca^{2+} является ключевым ферментом в фосфоинозитол-сигнальном каскаде реакций. Этот фермент, локализуясь в плазматической мембране, контролирует уровень фосфотидилинозитол-3,4-бифосфата в клетках и катализирует его гидролиз в ответ на клеточные стимулы.

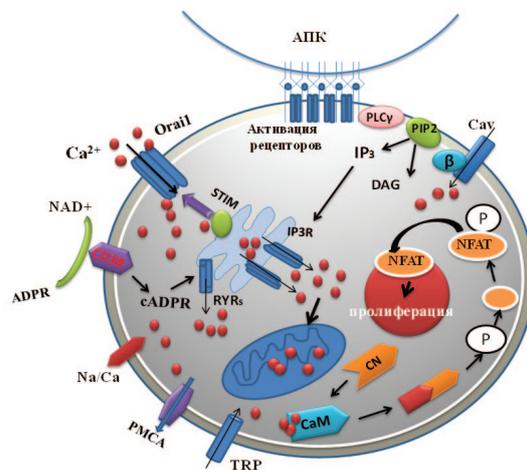


Рис. Кальциевая сигнализация в лимфоцитах

АПК – антиген – представляющая клетка, PLC γ – фосфолипаза γ , PIP $_2$ – фосфатидилинозитолбифосфат, Cav – потенциал – зависимый канал, P – неорганический фосфат, NFAT – ядерный фактор активации Т клеток, CN – кальцинейрин, CaM – кальмодулин, IP $_3$ R – инозитол-1,4,5-трифосфат – чувствительные рецепторы, Na/Ca – натрий/кальциевый насос, PMCA – CaATФаза плазматической мембраны, RYRs – рианодинновые рецепторы, Stim – белки эндоплазматического ретикулума, белки Orai – поро-образующие субъединицы кальций – селективных каналов.

В процессе гидролиза фосфолипаза γ расщепляет PIP $_2$ в плазматической мембране на два вторичных мессенджера: диацилглицерол, и инозитол-1,4,5-трифосфат (InsP $_3$) [10, 29, 18]. Диацилглицерол в слое плазматической мембраны, активирует протеинкиназу C и gas – зависимые пути. InsP $_3$ представляет собой низкомолекулярную водорастворимую молекулу, которая диффундирует из мембраны в цитозоль и там, индуцирует высвобождение Ca $^{2+}$ из двух депо: эндоплазматического ретикулума и внеклеточной среды [4, 15]. Это приводит к изменению уровня Ca $^{2+}$ в цитозоле и запуску механизмов кальциевой сигнализации. Таким образом, активация лимфоцитов является кальций – зависимым процессом.

Высвобождение кальция из внутриклеточного депо

Транспорт Ca $^{2+}$ из депо в цитозоль осуществляется по градиенту концентрации, поскольку уровень кальция значительно ниже в цитозоле (100нМ) чем в депо (100-800 мкМ) [10]. Высвобождение Ca $^{2+}$ из депо в основном опосредовано рецепторами нескольких семейств каналов: инозитол-1,4,5-трифосфат-чувствительными рецепторами (IP $_3$ R), пуринергическими рецепторами P $_2$ X $_7$, рианодинновыми рецепторами RYRs [24]. Они имеют различный профиль экспрессии, механизм активации и обеспечивают пассивный поток ионов [15].

В мембране эндоплазматического ретикулума лимфоцитов экспрессируется субсемейство белков, которые влияют на уровень кальция в цитозоле IP $_3$ R. Эти каналы представляют собой тетрамеры, которые содержат домены, связывающие молекулы IP $_3$ [21]. Взаимодействие IP $_3$ с рецепторами каналов влияет на их открытие и высвобождение Ca $^{2+}$ из депо [4, 6, 17].

Структурными и функциональными аналогами IP $_3$ R являются рианодинновые рецепторы. Это крупные гомотетрамерные субъединицы, образующие три изоформы: RYR $_1$, RYR $_2$, RYR $_3$ [21]. Известно, что рианодинновые рецепторы активируются при повышении уровня циклической АДФ-рибозы, которая продуцируется из β -НАД под действием фермента АДФ – рибозилциклазы – CD38 [8, 13, 22, 26]. В значительном количестве CD38 экспрессируется во время активации лимфоцитов. CD38 катализирует синтез циклической АДФ-рибозы, которая мобилизует Ca $^{2+}$ из внутриклеточного депо [26, 33].

В Т клетках экспрессируется три изоформы пуринергических рецепторов (P $_2$ X $_1$, P $_2$ X $_4$, P $_2$ X $_7$), реагирующих на изменение уровня внеклеточных пуринов и функционирующих в качестве ионных каналов. Они представляют собой семейство неселективных ионных каналов, которые активируются внеклеточными молекулами АТФ. Открытие этих каналов, особенно

P $_2$ X $_7$, вызывает приток Ca $^{2+}$ и активацию пролиферации лимфоцитов [21].

Таким образом, высвобождение Ca $^{2+}$ из депо вносит относительно небольшой вклад в суммарный кальциевый сигнал по сравнению с током Ca $^{2+}$ сквозь каналы плазматической мембраны. Этот процесс является триггером более крупного тока Ca $^{2+}$ по каналам плазматической мембраны в клетку.

Ток Ca $^{2+}$ по каналам плазматической мембраны

Значительный ток Ca $^{2+}$ в клетку осуществляется через каналы плазматической мембраны лимфоцитов [7, 9]. К ним относят каналы, активируемые белками Stim и Orai, каналы TRP, потенциал-зависимые кальциевые каналы Ca $_v$. Они также имеют различный профиль экспрессии, механизм активации [9, 15]. Лимфоциты на экспрессируют белки семейства TRP: TRPC $_1$, TRPC $_3$, TRPM $_2$, TRPM $_4$, TRPM $_7$, TRPV $_1$, TRPV $_2$. Доказано участие этих каналов в транспорте и гомеостазе внутриклеточного кальция [25]. Во время активации TRP каналов осуществляется деполяризация мембраны с изменением уровня кальция. Так, каналы TRPC $_3$ в активном состоянии регулируют ток Ca $^{2+}$ в клетку, каналы TRPM $_4$ снижают поступление Ca $^{2+}$, деполяризуя мембрану, каналы TRPV $_1$ имеют низкую проницаемость для ионов кальция [5, 31].

Лимфоциты экспрессируют потенциал – зависимые каналы Ca $_v$ L-типа: Ca $_v$ 1.1, Ca $_v$ 1.2, Ca $_v$ 1.3, Ca $_v$ 1.4. Они содержат поро – формирующую субъединицу α и регуляторные β_3 и β_4 субъединицы и обеспечивают ток Ca $^{2+}$ внутрь клетки во время активации лимфоцитов [2, 9, 14].

Наибольшее значение в регуляции гомеостаза Ca $^{2+}$ имеют кальций – селективные каналы. Они отличаются высокой селективностью и низкой кондуктивностью. В основе активации данных каналов лежит механизм депо – зависимого тока Ca $^{2+}$ в клетки, а именно активация кальций – селективных каналов в ответ на истощение депо [6, 7, 17]. Известно, что молекулярными медиаторами депо – зависимого тока Ca $^{2+}$ являются семейство белков Stim и Orai. Белки Stim играют роль сенсоров Ca $^{2+}$ в депо, они во время активации клетки кооперируются с белками Orai. В свою очередь, белки Orai образуют пору в плазматической мембране, через которую осуществляется ток Ca $^{2+}$ в клетку [17, 19, 24, 28, 6].

Таким образом, координация и регуляция кальциевых сигналов опосредуется молекулярными компонентами кальций – селективных каналов, белками Stim и Orai [21, 29, 30].

Кальциевая сигнализация в реализации иммунного ответа

Основная функция Ca $^{2+}$ в контроле пролиферации клеток заключается в активации ядерного фактора активации Т клеток (NFAT). В иммунных клетках активированная NFAT оказывает влияние на экспрессию генов, которые опосредуют нарушения генетических программ, включая эффекторы иммунных функций, клеточную пролиферацию и клеточную гибель [3, 6, 11, 12].

В периферических лимфоцитах экспрессируется четыре семейства факторов транскрипции NFAT1-4, особенностью которых является регуляция уровня

Ca²⁺ и кальцинейрина – ключевого элемента в механизме активации NFAT [16, 12, 18]. В цитоплазме покоящихся клеток NFAT обычно находится в фосфорилированной форме [3].

В процессе стимуляции клетки NFAT дефосфорилируется кальцинейрином – кальмодулин – зависимой серин/треонин фосфатазой [32]. В дефосфорилированном состоянии NFAT импортируется в ядро, где кооперируется с кофакторами транскрипции [27]. Во время инактивации механизма сигнализации, кальций – чувствительные киназы в ядре фосфорилируют NFAT, который затем покидает ядро, после чего транскрипция генов прекращается [12]. Длительный период кальциевой сигнализации требуется для индукции пролиферации клеток, поэтому клеткам важно сохранять NFAT в его активной форме [3, 16, 19].

Внутриклеточный кальций функционирует как универсальный вторичный мессенджер в эукариотических

клетках, включая клетки иммунной системы. В лимфоцитах кальциевые сигналы индуцируют различные иммунные реакции, от процессов толерантности до активации воспаления, в зависимости от механизма активации кальциевых каналов. Главным образом, процессы кальциевой сигнализации опосредуются в лимфоцитах кальций – селективными каналами, которые активируются по механизму депо – зависимого тока. Это основной механизм передачи пространственных и временных сигналов в лимфоцитах. Значительное изменение уровня внутриклеточного Ca²⁺ инициирует ядерный фактор активации лимфоцитов и продукцию провоспалительных цитокинов. Напротив, ингибирование депо – зависимого входа кальция в клетки, кальцинейрин / NFAT-зависимых путей вызывает механизмы иммуносупрессии, поэтому модуляция механизмов кальциевой сигнализации широко используется в терапевтических стратегиях иммунных расстройств.

Литература

1. Arbabian A., Brouland J., Gerlerbart P., Bobe R., Enouf J., Papp B. Endoplasmic reticulum calcium pumps and cancer // International Union of Biochemistry and Molecular Biology. – 2011. – Vol. 37, № 3. – P. 139-149.
2. Badou A., Jha M.K., Matza D., Flavell R.A. Emerging roles of L-type voltage-gated and other calcium channels in T lymphocytes // Frontiers in immunology. – 2013. – Vol. 4. – P. 1-10.
3. Bengsch B., Wherry E.J. The Importance of Cooperation: Partner less NFAT Induces T cell Exhaustion // Immunity. – 2015, № 42. – P. 203-205.
4. Berridge M.J. The endoplasmic reticulum: a multifunctional signaling organelle // Cell Calcium. – 2002. – Vol. 32, № 5-6. – P. 235-249.
5. Cheng K.T., Ong H.L., Liu X., Ambudkar I.S. Contribution and regulation of TRPC channels in store-operated Ca²⁺ entry // Current top membranes. – 2013. – № 71. – P. 1-20.
6. Hogan P.G., Rao A. Store-operated calcium entry: Mechanisms and modulation // Biochemical and biophysical research communications. – 2015. – № 460. – P. 40-49.
7. Hot M. CRAC channels, calcium and cancer // Biochimica et biophysica acta. – 2016. – Vol. 1863, № 6. – P. 1408-1417.
8. Guse A. H. Calcium mobilizing second messengers derived from NAD // Biochimica et Biophysica Acta. – 2015. – Vol. 1854, № 19. – P. 1132-1137.
9. Izquierdo J., Bonilla-Atodia F., Canas C.A., Tontonoz G.J. Calcium, channels, intracellular signaling and autoimmunity // Reumatologia clinica. – 2014. – Vol. 10, № 1. – P. 43-47.
10. Krebs J., Agella L.B., Michalak M. Ca²⁺ homeostasis and endoplasmic reticulum stress: an integrated view of calcium signaling // Biochemical and biophysical research communications. – 2015. – № 460. – P. 114-121.
11. Lee M.D., Bingham K.N., Mitchell T.Y., Meredith J.L., Rawlings J.S. Calcium mobilization is both required and sufficient for initiating chromatin decondensation during activation of peripheral T-cells // Molecular Immunology. – 2015. – № 63. – P. 540-549.
12. Macian F. NFAT proteins: key regulators of T cell development and function // Nature publishing group. – 2005. – Vol. 5. – P. 472-484.
13. Magnone M., Nencioni A., Bruzzone S. NAD⁺ Levels Control T Cell Calcium Signaling and Activation // Messenger. – 2015. – Vol. 4, № 1. – P. 98-103.
14. Matza C.D., Badou A., Klemic K.G., Stein J., Govindarajulu U., Nadler M.J., Kinet J.P., Peled A., Shapira O.M., Kaczmarek L.K., Flavell R.E. T cell receptor mediated calcium entry requires alternatively spliced Cav1.1 // PLOS ONE. – 2016. – Vol. 11, № 1. – P. 1-17.
15. Nohara L.L., Stanwood S.R., Omilusik K.D., Jeffries W.A. Tweeters, woofers and horns: the complex orchestration of calcium currents in T lymphocytes // Front. Immunol. – 2015. – Vol. 6, № 234. – P. 1-9.
16. Pan M., Xiong Y., Chen F. NFAT gene family in inflammation and cancer // Curr. Mol. Med. – 2013. – № 4. – P. 543-554.
17. Prakriya M. Store-Operated Orai channels: Structure and Function // Published by Elsevier. – 2013. – Vol. 71. – P. 1-3.
18. Putney J.W. Calcium Signaling: Deciphering the Calcium–NFAT Pathway // Current Biology. – 2011. – Vol. 22, № 3. – P. 87-89.
19. Putney J. W. Pharmacology of store-operated calcium signaling // Molecular interventions. – 2010. – Vol. 10, № 4. – P. 209-218.
20. Randriamampita C., Lellouch A. Imaging early signaling events in T lymphocytes with fluorescent biosensors // Biotechnology. – 2014. – № 9. – P. 203-212.
21. Robert V., Triffaux E., Savignac M., Pelletier L. Calcium signaling in T-lymphocytes // Biochimie. – 2011. – № 93. – P. 2087-2094.
22. Rosen D., Bloor-Young D., Squires J., Parkesh R., Waters G., Vasudevan S.R., Lewis A.M., Churchill G.C. Synthesis and use of cell-permeant cyclic ADP-ribose // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2012. – № 418. – P. 353-358.
23. Rüdiger S. Stochastic models of intracellular calcium signals // Physics Reports. – 2014. – № 534. – P. 39-87.

24. Sammels E., Parys J.B., Missiaen L., Smedt H.D., Bultynck G. Intracellular Ca²⁺ storage in health and disease: A dynamic equilibrium // *Cell Calcium* . – 2010. – № 47. – P. 297-314.
25. Santoni G., Farfariello V., Liberati S., Morelli M.B., Nabissi M., santoni M., Amantini C. The role of transient receptor potential type-2 ion channels in innate and adaptive immune responses // *Frontiers in immunology*. – 2013. – Vol. 4, № 34. – P. 1-9.
26. Schmid F., Bruhn S., Weber K., Mittrücker H. Guse A CD38: A NAADP degrading enzyme // *FEBS* . – 2011. – Vol. 585. – P. 3544-3548.
27. Shou J., Jing J., Xie J., You L., Jing Z., Yao J., Han W., Pan H. Nuclear factor of activated T cells in cancer development and treatment // *Cancer Letters*. – 2015. – Vol. 361, № 2. – P. 174-184.
28. Smyth J.S., Hwang S., Tomita T, DeHaven W.I., Mercer J.C., Putney J.W. Activation and regulation of store-operated calcium entry // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2010. – Vol. 14, № 10. – P. 2337-2349.
29. Soboloff J., Rothberg B.S., Madesh M., Gill D.L. Stim proteins: dynamic calcium signal transducers // *Nature*. – 2012. – Vol. 13. – P. 549-565.
30. Stathopoulos P., Ihura M. Structural aspects of calcium – release activated calcium channel function // *Channels*. – 2014. – № 17. – P. 344-353.
31. Toldi G. The regulation of calcium homeostasis in T lymphocytes // *Frontiers in immunology*. – 2013. – Vol. 4, № 432. – P. 1-2.
32. Vandewalle A., Tourneur E., Bens M., Chassin C., Werts C. Calcineurin/NFAT signaling and innate host defense: a role for NOD1-mediated phagocyte functions // *Cell Communication and Signaling*. – 2014. – Vol. 12, № 8. – P. 1-10.
33. Wei W., Graeff R, Yue J. Roles and mechanisms of the CD38/cyclic adenosine diphosphate ribose/Ca²⁺ signaling pathway // *J. Biol. Chem*. – 2014. – Vol. 26, № 1. – P. 58-67.

Координаты для связи с авторами: Лычковская Елена Викторовна – старший преподаватель кафедры биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, тел. +7-962-069-74-47, e-mail: lychk-elena@mail.ru; Шуваев Антон Николаевич – канд. мед. наук, научный сотрудник НИИ молекулярной медицины и патобиохимии ФГБОУ ВО КраГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, тел. 8-(391)-22-80-769; e-mail: shuvaevanton@hotmail.com; Ендржеевская-Шурыгина Виктория Юлиановна – канд. хим. наук, доцент кафедры биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, тел. +7-962-069-74-47, e-mail: 9135145077@mail.ru; Оловянная Раиса Яковлевна – канд. биол. наук, доцент кафедры биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, тел. +7-962-069-74-47, e-mail: olovyannikova2010@yandex.ru; Салмина Алла Борисовна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, руководитель НИИ молекулярной медицины и патобиохимии ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, тел. 8-(391)-22-80-769, e-mail: allasalmina@mail.ru.



УДК 616.34-005.1

В.А. Кащенко^{1,2}, Е.Г. Солоницын^{1,2}, Д.В. Распереза², А.В. Лодыгин³, Е.Г. Бескровный^{1,3},
А.С. Климов², И.О. Шацлло^{1,2}, М.И. Глузман^{1,2}, Н.Н. Лебедева^{1,2}

«РЕДКИЕ» ПРИЧИНЫ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ КРОВОТЕЧЕНИЙ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

¹Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Университетская наб., 7/9;

²Клиническая больница № 122 им. Л.Г. Солокова ФМБА России, 194291, пр. Культуры, 4;

³НУЗ «Дорожная клиническая больница ОАО «РЖД»,
195271, пр. Мечникова, 27, г. Санкт-Петербург

Резюме

В статье представлен обзор заболеваний и синдромов, вызывающих желудочно-кишечные кровотечения, которые до недавнего времени считались весьма редкими (вплоть до казуистичности). Не в последнюю очередь, это было связано как с трудностями выявления, так и малой освещенностью этой проблемы в литературе. В основном, речь идет о поражении тонкой кишки. Однако, появление и внедрение за последние 15 лет новых эндоскопических методик (видеокапсульная и баллон-ассистированная энтероскопия) значительно улучшило прижизненную и дооперационную диагностику. Накопленный таким образом материал способствует улучшению понимания патогенеза, разработке диагностических алгоритмов и выработки дифференцированной тактики лечения.

Ключевые слова: неуточненные желудочно-кишечные кровотечения, ангиодисплазии, дивертикулез, полипоз и опухоли тонкой кишки, болезнь Крона.