

Общие аспекты регуляции

Метаболизм представляет собой совокупность всех химических реакций, происходящих в организме. Под термином **метаболический путь** подразумевается последовательность реакций, приводящих к образованию определенного продукта. Соединения, образующиеся в ходе превращений, называют **метаболитами**. Изучение отдельных путей выделяют для удобства. В действительности метаболические пути связаны между собой в сети общими промежуточными продуктами и необходимостью обращения коферментов. В клетке коферменты присутствуют в низких фиксированных концентрациях, поэтому для функционирования метаболических путей необходима их постоянная регенерация.

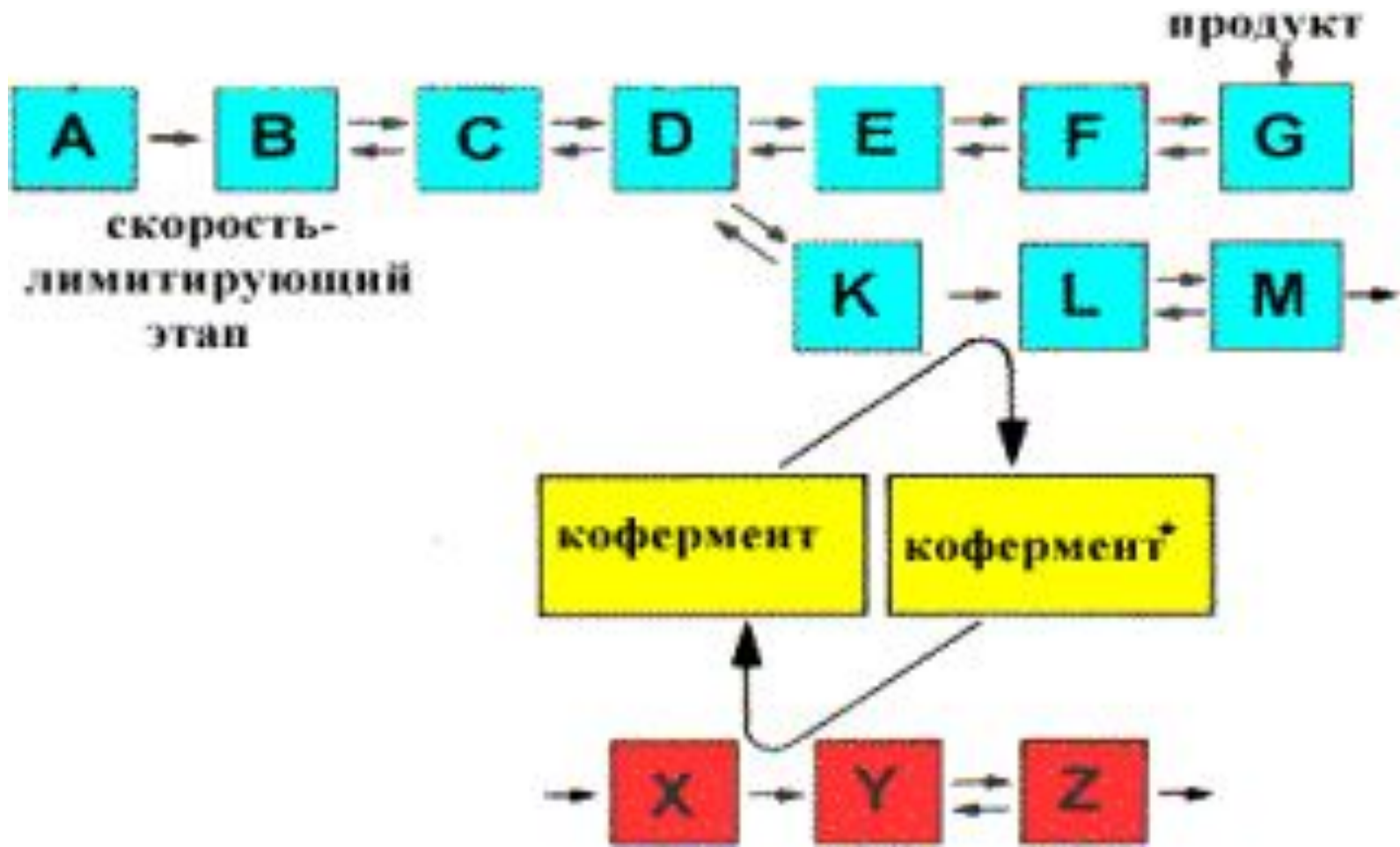


Рис.1. Объединение метаболических путей в метаболическую сеть

Анаболизм и катаболизм. В метаболизме можно выделить пути анаболизма, которые предназначены для биосинтезов, и пути катаболизма, которые ведут к расщеплению сложных молекул. Хотя катаболические и анаболические пути во многом различаются, они тесно связаны друг с другом. Связь между ними обеспечивает оптимальный уровень метаболизма. Катаболизм и анаболизм — это сопряженные взаимодополняющие процессы.

Энергия и метаболизм. Живые системы требуют постоянного притока энергии для своей жизнедеятельности. В отсутствие энергии клетку можно сравнить с неработающей машиной. Жизнь, рост, целостность клетки зависят от пищи не только как источника углерода, азота, фосфора и других необходимых элементов, но также как источника энергии.

Роль АТФ

Процессы, протекающие с потреблением и выделением энергии, связаны между собой. Центральную роль в этой взаимосвязи выполняет АТФ — основное высокоэнергетическое соединение клетки. Роль АТФ в клеточной энергетике можно определить следующим образом:

- химическая энергия, освобождаемая в процессе катаболизма, запасается путем фосфорилирования АДФ с образованием АТФ;
- энергия АТФ затем используется за счет расщепления макроэргических связей АТФ в ходе эндергонических реакций синтеза и других процессов, требующих затрат энергии, например активного транспорта (рис. 1).

АТФ часто рассматривается как энергетическая валюта. Важно понимать, что АТФ — это не вид энергии, а форма запасания энергии, получаемая при деградации сложных молекул. Пример рециркуляции АТФ приведен на рис.2.

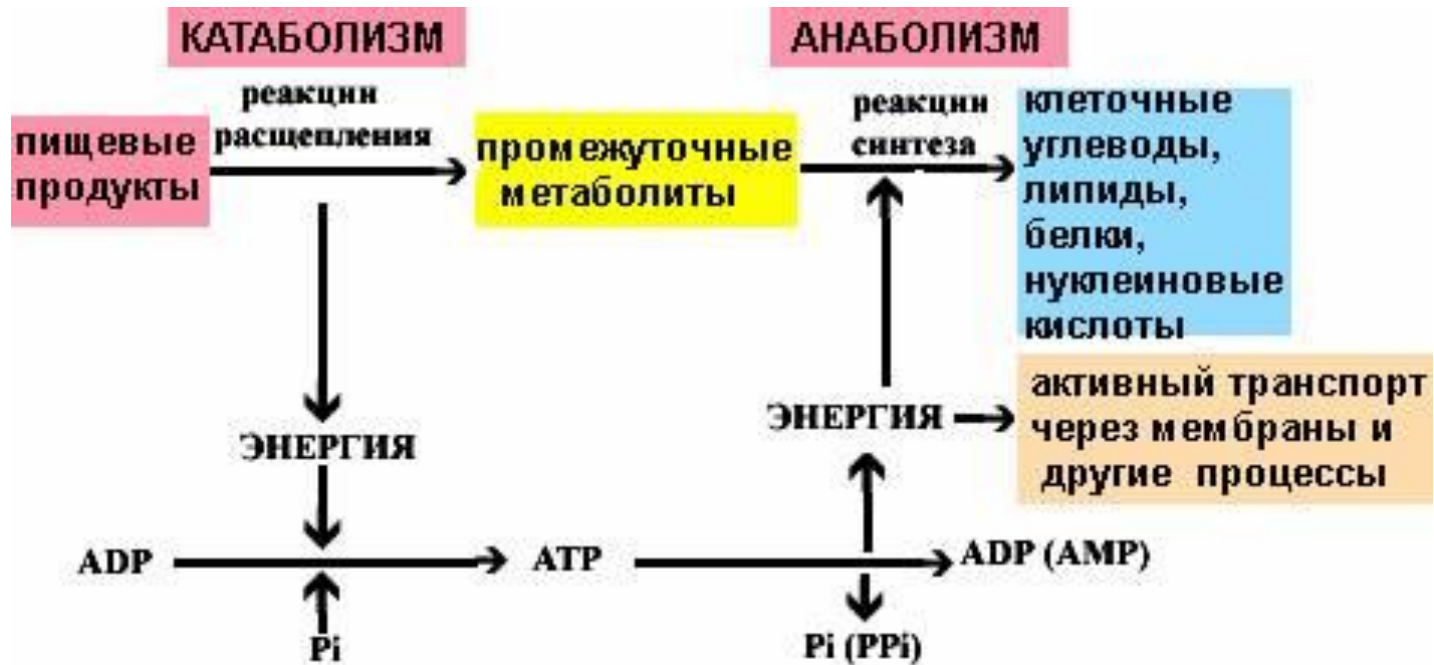


Рис.2. Роль АТФ в биоэнергетике

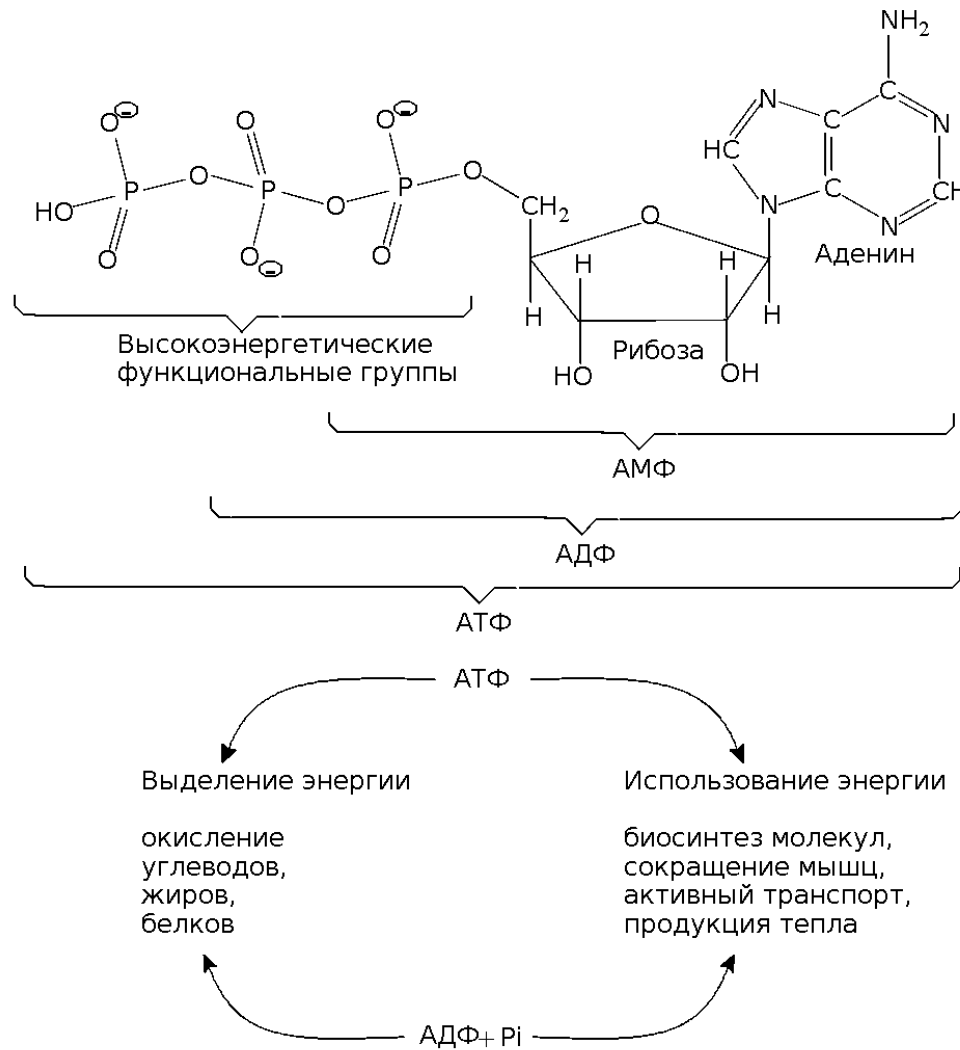


Рис. 3. Структура и рециркуляция АТФ

Регуляция метаболизма. Общие аспекты

Среди многих ферментов, обеспечивающих протекание того или иного метаболического пути со скоростью, необходимой для удовлетворения физиологических потребностей организма, только некоторые играют ключевую роль в регуляции. Это, во-первых, как правило, ферменты одной из начальных стадий цепи превращений, обязательно необратимой. Во-вторых, регуляторной функцией часто наделены ферменты, находящиеся в точках разветвления метаболических путей.

Кроме того, регуляторные ферменты часто катализируют самые медленные (лимитирующие) стадии метаболического пути. Активность ферментов в этих ключевых точках определяет скорость метаболизма и может регулироваться в основном тремя способами.

Аллостерическая регуляция ключевых ферментов позволяет получить немедленный ответ клетки на изменения условий среды, выражающиеся в изменении концентрации промежуточных продуктов или коферментов. Например, увеличение потребности клетки в АТФ приводит к повышению скорости гликолиза в мышечных клетках. Энергетический запас клетки определяется как отношение:

$$\frac{\frac{1}{2}[АДФ] + [АТФ]}{[АМФ] + [АДФ] + [АТФ]}$$

Скорость катаболизма глюкозы обратно пропорциональна энергетическому запасу клетки вследствие противоположности влияния АДФ + АМФ или АТФ на регуляторные ферменты гликолиза. Аллостерическая регуляция ферментов является основным способом регуляции метаболических путей.

Отрицательная обратная связь. В простейших саморегулирующихся системах увеличение концентрации конечного продукта подавляет его синтез на ранних стадиях

Отрицательная обратная связь. В простейших саморегулирующихся системах увеличение концентрации конечного продукта подавляет его синтез на ранних стадиях



Положительная и отрицательная обратные связи

Положительная обратная связь наблюдается, когда метаболит-предшественник активирует стадию, контролирующую его дальнейшее превращение, например, переход в запасные вещества. Вещество запасается только тогда, когда его количество превосходит потребности метаболического пути.

Ковалентная модификация ключевых ферментов может осуществляться под влиянием внеклеточных воздействий (гормонов) и приводить как к активации, так и к ингибированию ферментов. В этом случае метаболизм клетки изменяется таким образом, чтобы соответствовать в большей мере потребностям организма, чем потребностям самой клетки. Ковалентная модификация обычно осуществляется путем фосфорилирования — дефосфорилирования. Фосфорилирование катализируют протеинкиназы. Соответствующие им фосфатазы дефосфорилируют фермент и, следовательно, отменяют результаты фосфорилирования. Количество фосфорилированных форм фермента зависит от соотношения активностей киназы и фосфатазы.

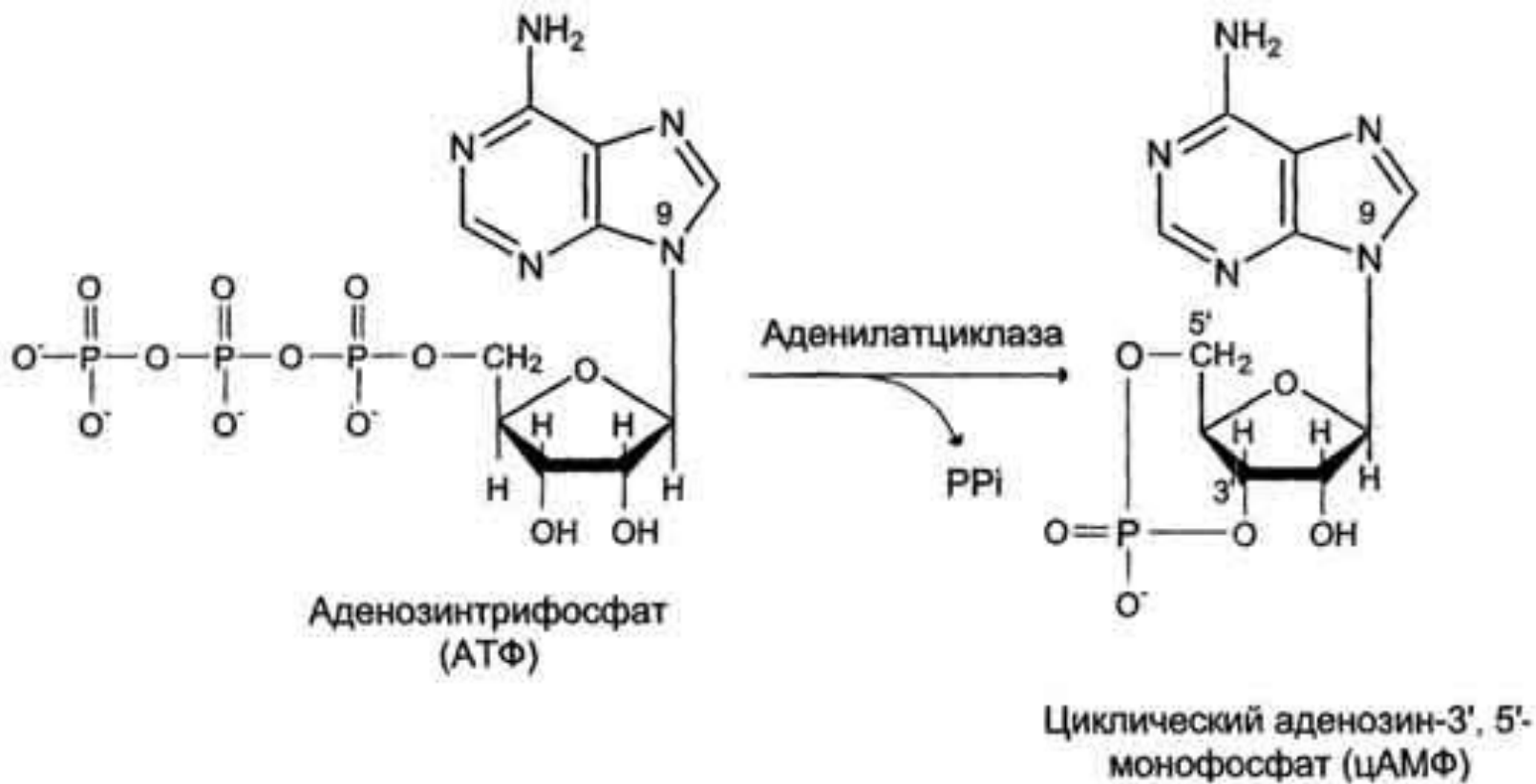
Индукция или репрессия синтеза ферментов приводит к изменению количества ферментов и, значит, скорости метаболизма. Подобным способом обеспечиваются долговременные, адаптивные изменения метаболизма. Индукция и репрессия синтеза ферментов могут происходить в клетках в результате влияния на них некоторых гормонов.

Механизм действия гормонов на метаболизм

Гормоны — это **межклеточные химические посредники** (мессенджеры). Они секретируются одним типом клеток в ответ на определенные стимулы (сигналы) и оказывают воздействие на метаболизм клеток другого типа. Например, клетки островков Лангерганса поджелудочной железы секретируют гормон глюкагон в ответ на снижение концентрации глюкозы в крови. Глюкагон стимулирует распад гликогена в клетках печени и поступление запасенной глюкозы в кровь.

Гормоны обладают высокой биологической активностью. Их действие проявляется при очень низких концентрациях (10^{-6} – 10^{-10} моль/л). С химической точки зрения гормоны можно разделить на три группы: 1) гормоны — производные аминокислот, 2) белково-пептидные гормоны, 3) стероидные гормоны. Гормоны оказывают свое действие, связываясь со специфическими рецепторами, располагающимися либо на поверхности мембраны клетки, либо в цитозоле. Связывание с рецепторами – обязательный этап в действии гормона. Белково-пептидные гормоны и гормоны — производные аминокислот являются гидрофильными веществами, и проникновение их через плазматическую мембрану, состоящую из липидного бислоя, затруднено или невозможно. Рецепторы таких гормонов находятся на наружной поверхности плазматической мембраны. Гормоны связываются с рецепторными белками тех участков мембран клеток-мишеней, которые контактируют с окружающей средой, что, в свою очередь, активирует ферментную систему, отвечающую за образование вторичного (внутриклеточного) посредника.

Система вторичных посредников. Появление в клетке вторичного посредника является пусковым моментом для изменения метаболизма, осуществляемого обычно путем фосфорилирования белков. Роль вторичных посредников могут выполнять цАМФ, цГМФ, инозитолтрифосфат, диацилглицерол, Ca^{2+} . Наиболее распространенным и хорошо изученным вторичным посредником является циклический 3',5'-аденозинмонофосфат (цАМФ). Связывание гормона с рецептором активирует аденилатциклазу и, следовательно, ведет к повышению внутриклеточной концентрации цАМФ, что сопровождается увеличением скорости фосфорилирования белка. Наличие каскада ферментативных реакций между связыванием гормона с рецептором и изменением метаболизма позволяет значительно усилить первичное воздействие гормона. При участии аденилатциклазной системы реализуются эффекты сотни различных по своей природе сигнальных молекул — гормонов, нейромедиаторов, эйкозаноидов.

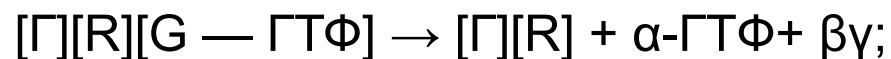


Образование цАМФ

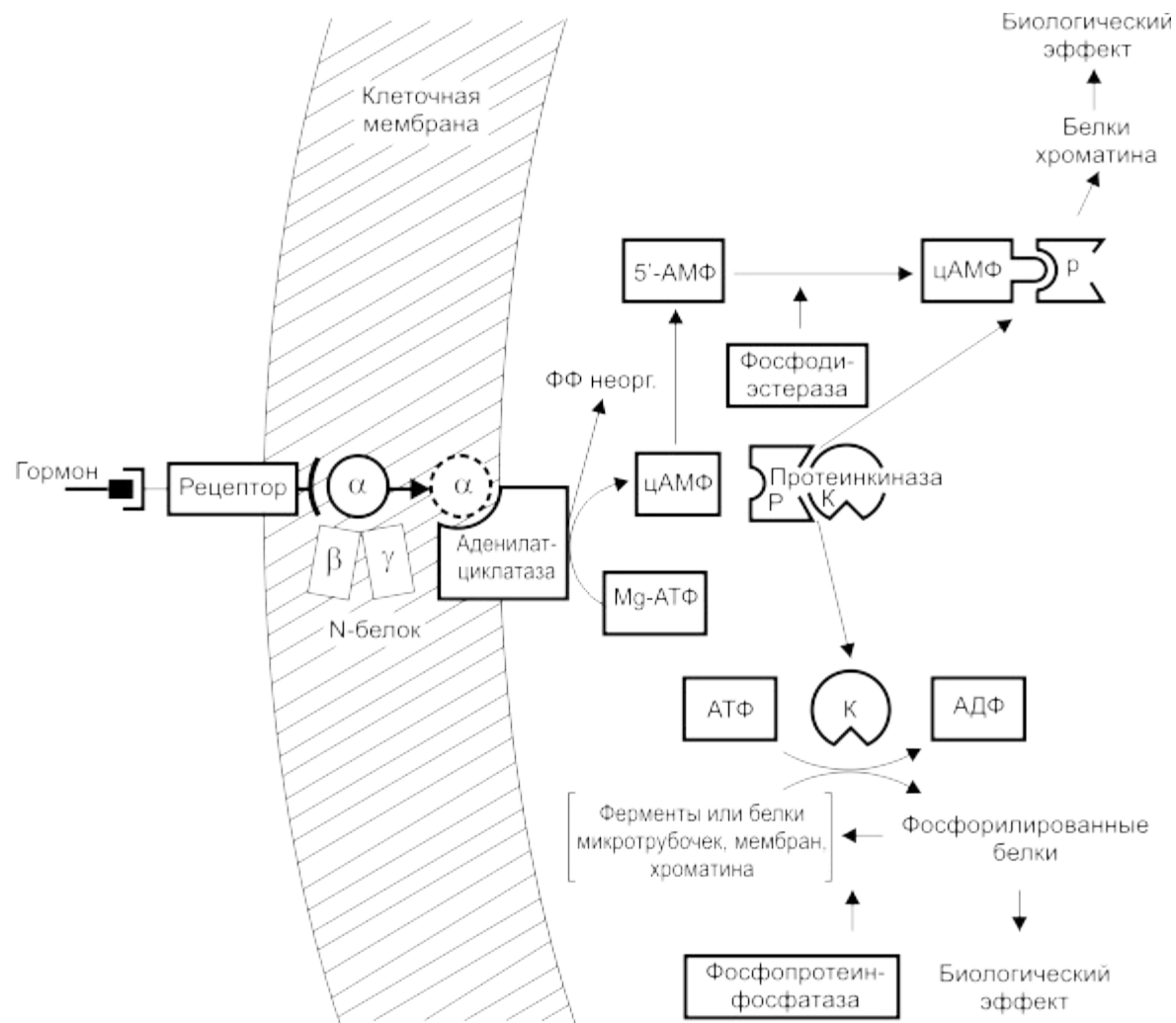
Функционирование системы трансмембранной передачи сигналов обеспечивают белки: R_s — рецептор сигнальной молекулы, которая активирует аденилатциклазу, R_i — рецептор сигнальной молекулы, которая ингибирует аденилатциклазу; G_s — стимулирующий и G_i — ингибирующий аденилатциклазу белок; ферменты аденилатциклаза (АЦ) и протеинкиназа А (ПКА).

Последовательность событий, приводящих к активации **аденилатциклазы:**

- связывание активатора аденилатциклазной системы, например гормона (Γ) с рецептором (R_s), приводит к изменению конформации рецептора и увеличению его сродства к G_s -белку. В результате образуется комплекс $[\Gamma][R][G\text{-ГДФ}]$;
- присоединение $[\Gamma][R]$ к $G\text{-ГДФ}$ снижает сродство α -субъединицы G_s -белка к ГДФ и увеличивает сродство к ГТФ. ГДФ замещается на ГТФ;
- это вызывает диссоциацию комплекса. Отделившаяся субъединица α , связанная с молекулой ГТФ, обладает сродством к аденилатциклазе:



- взаимодействие α -субъединицы с аденилатциклазой приводит к изменению конформации фермента и его активации, увеличивается скорость образования цАМФ из АТФ;
- конформационные изменения в комплексе $[\alpha\text{-ГТФ}][\text{АЦ}]$ стимулируют повышение ГТФ — фосфатазной активности α -субъединицы. Протекает реакция дефосфорилирования ГТФ, и один из продуктов реакции — неорганический фосфат (P_i) отделяется от α -субъединицы; скорость гидролиза определяет время проведения сигнала;
- образование в активном центре α -субъединицы молекулы ГДФ снижает его сродство к аденилатциклазе, но увеличивает сродство к β - и γ -субъединицам. Gs-белок возвращается к неактивной форме;
- если рецептор связывается с новой молекулой активатора, например гормоном, цикл функционирования Gs белка повторяется.



Механизм действия гормонов, опосредованный цАМФ

Активация протеинкиназы А (ПКА)

Молекулы цАМФ могут обратимо соединяться с регуляторными субъединицами ПКА. Присоединение цАМФ к регуляторным субъединицам (R) вызывает диссоциацию комплекса C_2R_2 на комплекс цАМФ $_4R_2$ и $C + C$. Субъединицы C представляют собой активную форму протеинкиназы А.

Активная протеинкиназа А фосфорилирует специфические белки по серину и треонину, в результате изменяются конформация и активность фосфорилированных белков, а это приводит к изменению скорости и направления регулируемых процессов в клетке.

Концентрация цАМФ в клетке может изменяться, она зависит от соотношения активностей ферментов аденилатциклазы и фосфодиэстеразы.

Большую роль в регуляции внутриклеточной сигнальной системы играет белок AKAPs. «Заякоренный» белок AKAPs участвует в сборке ферментных комплексов, включающих не только протеинкиназу А, но и фосфодиэстеразу и фосфопротеинфосфатазу.

Инозитолфосфатная система

Инозитолфосфатная система включает 3 основных мембранных белка: R (рецептор), фосфолипазу C и G_{plc} — белок, активирующий фосфолипазу C, а также белки и ферменты мембран цитозоля, участвующие в связывании и транспорте Ca^{2+} .

Последовательность событий, приводящих к активации фосфолипазы C:

- связывание гормона с R приводит к изменению его конформации и увеличению сродства к G_{plc} ;
- образование комплекса $[\Gamma][R][G_{\text{plc}} - \text{ГДФ}]$ приводит к снижению сродства α -протомера G_{plc} -белка к ГДФ и увеличению сродства к ГТФ. ГДФ заменяется на ГТФ.

Инозитолфосфатная система

Это вызывает диссоциацию комплекса; α -GTP взаимодействует с фосфолипазой C и активирует ее. Субстратом этого фермента является фосфатидилинозитолбисфосфат (ФИФ₂).

В результате гидролиза ФИФ₂ образуется и выходит в цитозоль гидрофильное вещество инозитолтрифосфат (ИФ-3). Другой продукт реакции, диацилглицерол (ДАГ), остается в мембране и участвует в активации фермента протеинкиназы C (ПКС).

ИФ-3 связывается со специфическими центрами Ca²⁺-канала мембраны ЭР, он изменяет конформацию и канал открывается — Ca²⁺ поступает в цитозоль. В отсутствие в цитозоле ИФ-3 канал закрыт.

Инозитолфосфатная система

Повышение концентрации Ca^{2+} в цитозоле клетки увеличивает скорость взаимодействия Ca^{2+} с неактивным цитозольным ферментом протеинкиназой С и белком кальмодулином, таким образом сигнал, принятый рецептором клетки, удваивается.

Изменение конформации $[\text{PKC}][\text{Ca}^{2+}]$ увеличивает сродство центров связывания фермента к липидам клеточной мембраны — ДАГ и фосфатидилсерину (ФС). На внутренней стороне мембраны образуется ферментный комплекс — $[\text{PKC}][\text{Ca}^{2+}][\text{ДАГ}][\text{ФС}]$ — активная протеинкиназа С, которая меняет активность специфических ферментов, фосфорилируя их по серину и треонину.

В клетках тканей присутствует белок кальмодулин, который функционирует как внутриклеточный рецептор Ca^{2+} , он имеет 4 центра для связывания Ca^{2+} . Комплекс $[\text{кальмодулин}][4\text{Ca}^{2+}]$ не обладает ферментативной активностью, но взаимодействие комплекса с различными белками и ферментами приводит к их активации.

Инозитолфосфатная система

Для снижения концентрации Ca^{2+} в клетке до исходного уровня работают системы Ca^{2+} -АТФаз и транслоказ (антипорт).

При повышении в клетке концентрации Ca^{2+} увеличивается активность Ca^{2+} -АТФазы (E):

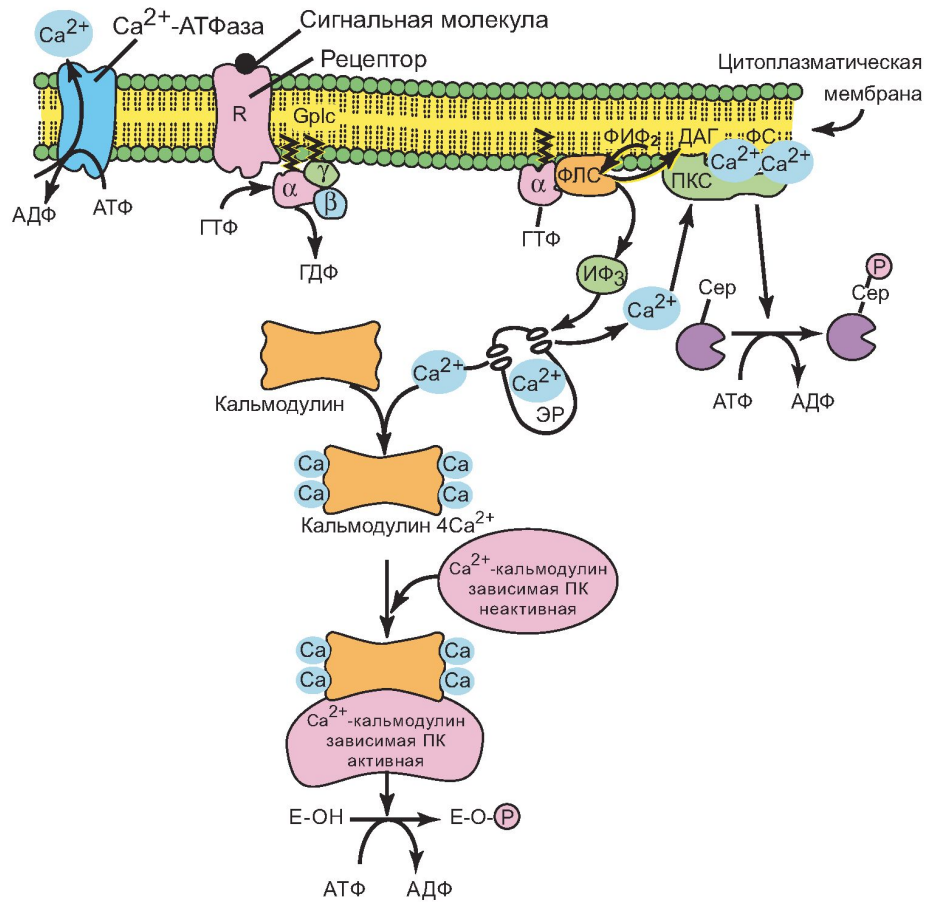
- это приводит к активации аутофосфорилирования и образованию фосфорилированной формы Ca^{2+} -АТРазы (E-P);
- аутофосфорилирование вызывает изменение конформации Ca^{2+} -АТФазы, снижение ее сродства к Ca^{2+} и высвобождение ионов по другую сторону мембраны.

Активность транслоказ Ca^{2+} и Ca^{2+} -АТФ-аз может регулироваться:

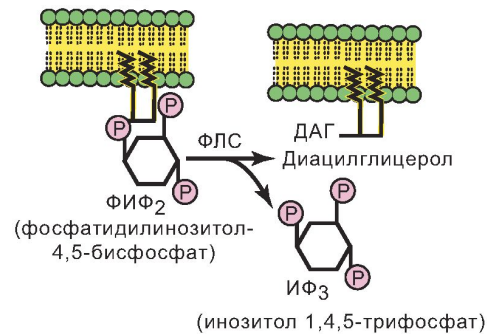
- комплексом [кальмодулин][4Ca^{2+}];
- ПКА (фосфорилированием);
- ПКС (фосфорилированием), а также зависит от структуры и состава липидного бислоя мембраны.

Присутствующие в цитозоле ИФ-3 и ДАГ в мембране могут в результате серии реакций опять превращаться в ФИФ_2 . Активная ПКС стимулирует образование ФИФ_2 .

ИНОЗИТОЛФОСФАТНАЯ СИСТЕМА

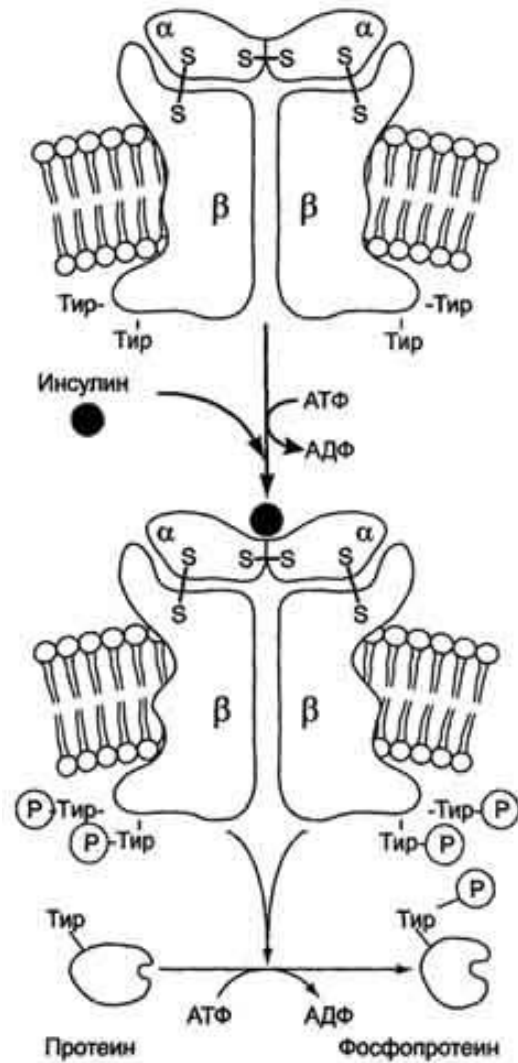


ГИДРОЛИЗ ФОСФАТИДИНОЗИТОЛБИСФОСАТА (ФИФ₂)



Трансдукция сигнала через инсулиновый рецептор

Рецептор инсулина представляет собой тирозиновую протеинкиназу (ТП), то есть протеинкиназу, фосфорилирующую белки по ОН-группам амтирозина. Рецептор состоит из 2 α - и 2 β -субъединиц, связанных дисульфидными связями и нековалентными взаимодействиями, α - и β -субъединицы являются гликопротеинами с углеводной частью на наружной стороне мембраны. Вне мембраны находятся α -субъединицы. Центр связывания инсулина образуют N-концевые домены α -субъединиц, а β -субъединицы пронизывают мембранный бислой и не участвуют в связывании инсулина.



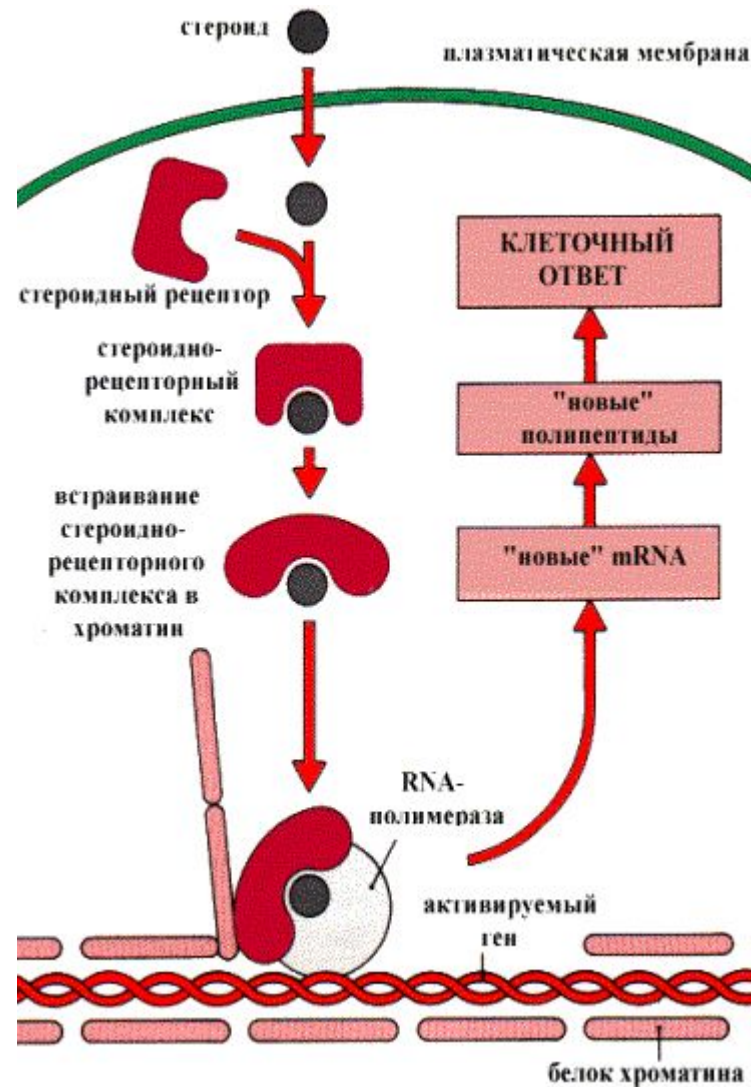
Активации рецептора инсулина — тирозиновой протеинкиназы

Трансдукция сигнала через инсулиновый рецептор

Каталитический центр ТП находится на внутриклеточных доменах β -субъединиц. Присоединение инсулина к центру связывания на α -субъединицах активирует аутофосфорилирование β -субъединиц, причем субстратом служит сама ТП. β -субъединицы фосфорилируются по нескольким тирозиновым остаткам. Это, в свою очередь, приводит к способности ТП фосфорилировать и другие внутриклеточные белки. Активация и изменение специфичности обусловлены конформационными изменениями рецептора инсулина после связывания инсулина и аутофосфорилирования.

Фосфорилирование внутриклеточных белков, участвующих в регуляции клеточных процессов, меняет их активность.

Стероидные гормоны являются веществами гидрофобного характера. Они легко преодолевают фосфолипидный барьер мембран и попадают в цитозоль клетки, где связываются с рецепторами. Образующийся комплекс гормон – рецептор перемещается в ядро, взаимодействует с хроматином и стимулирует или репрессирует транскрипцию определенных генов. Некоторые гормоны взаимодействуют с рецепторами, локализованными в ядре в составе хроматина. Таким образом, эти гормоны регулируют метаболические процессы, изменяя скорость биосинтеза ключевых белков.



Механизм действия стероидных гормонов