

# **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.

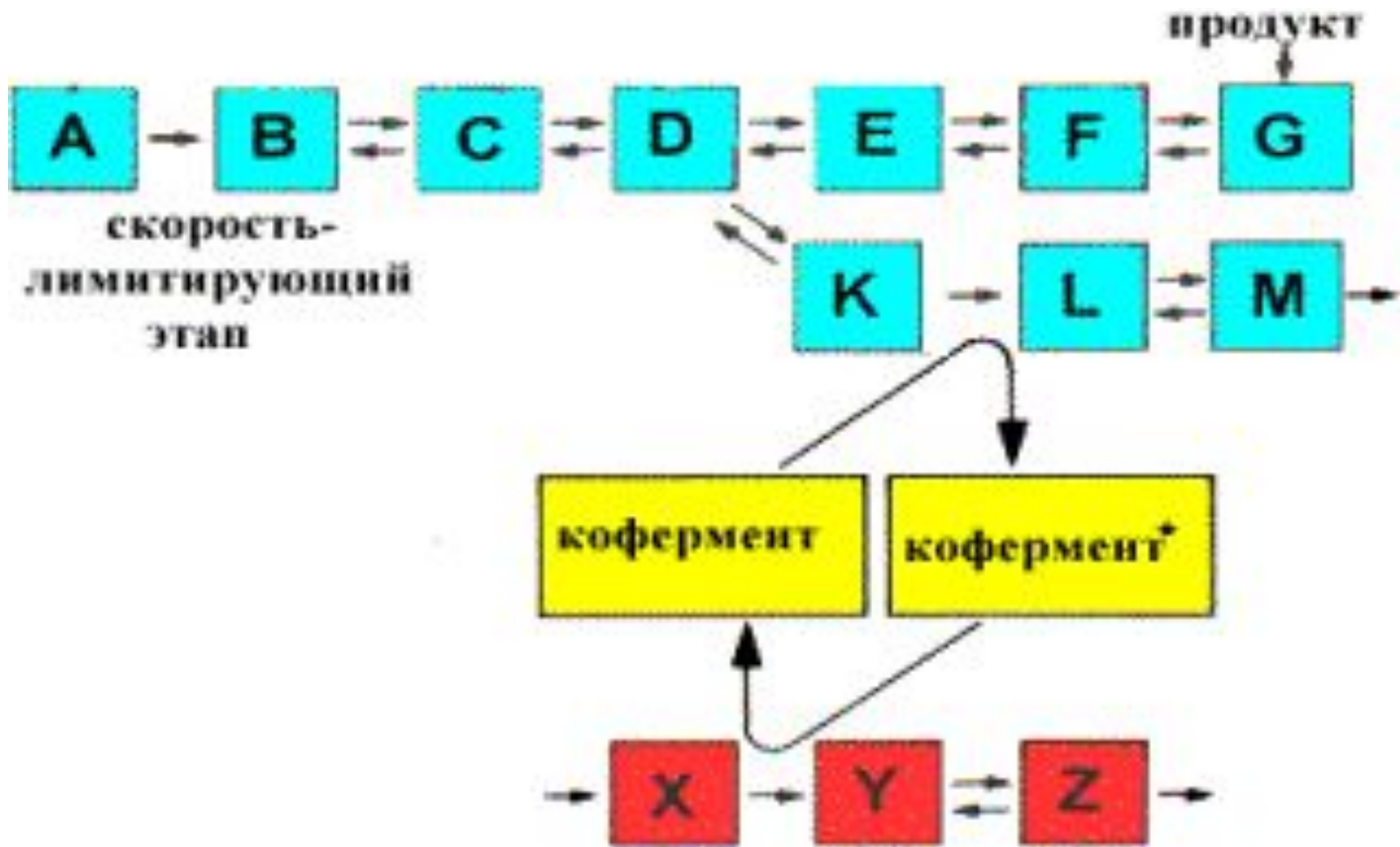


Рис.1. Объединение метаболических путей в метаболическую сеть

**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.

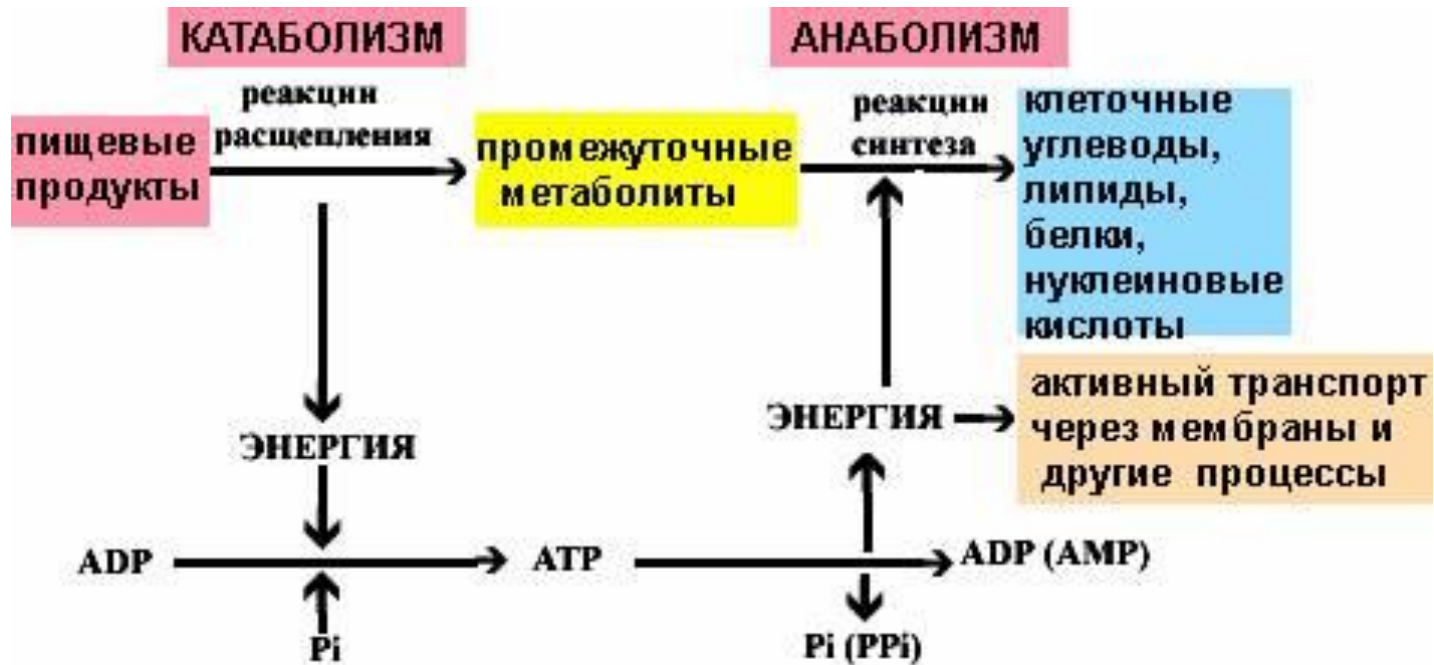


Рис.2. Роль АТФ в биоэнергетике

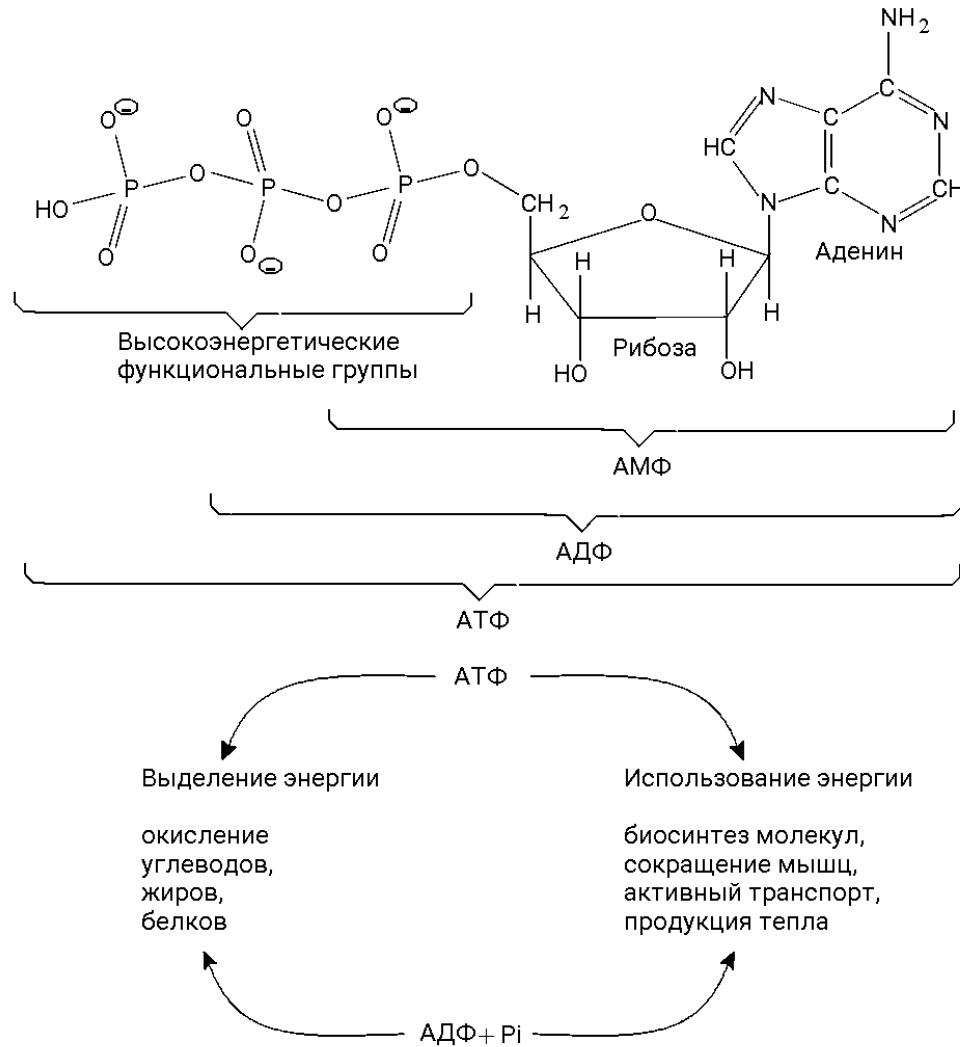


Рис. 3. Структура и рециркуляция АТФ

# 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.



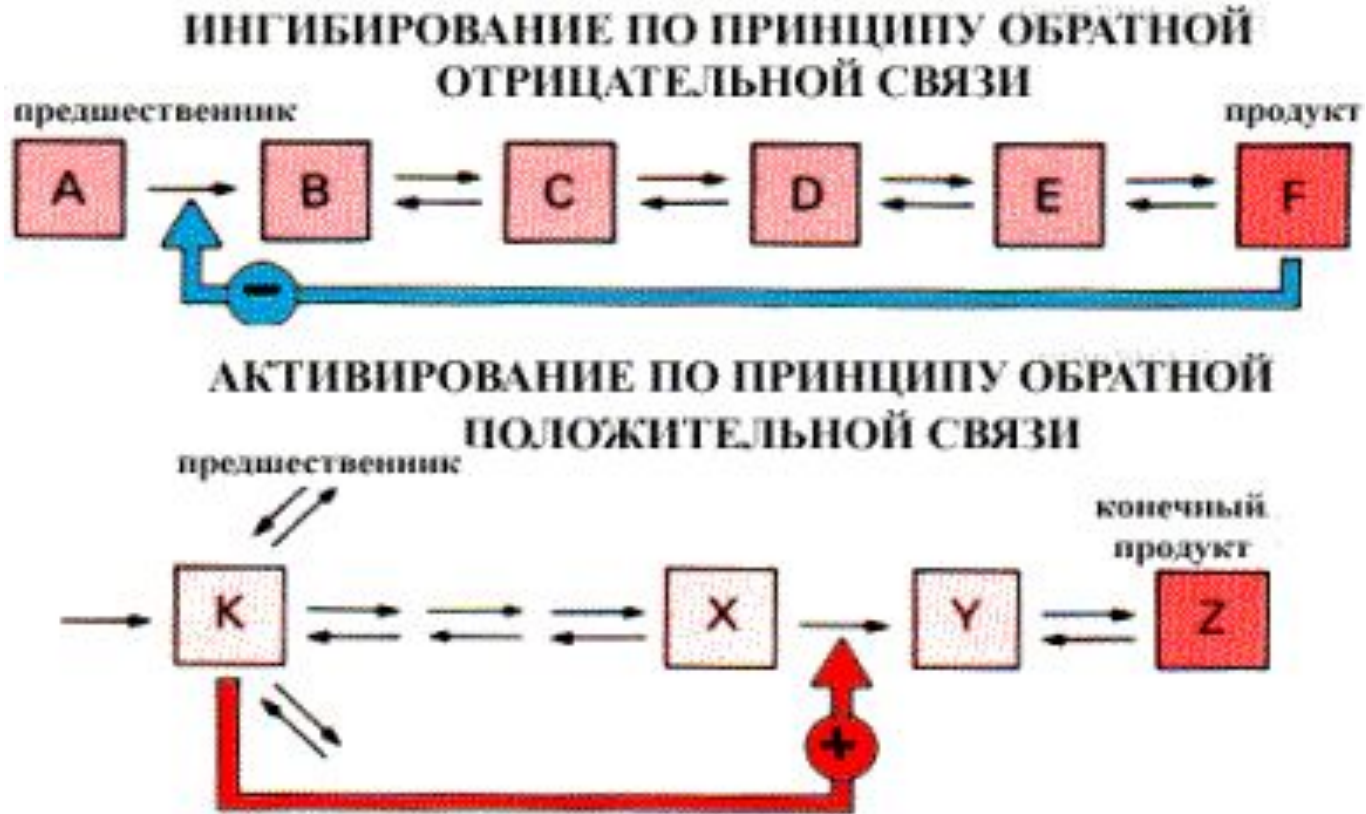
**Аллостерическая регуляция** ключевых ферментов позволяет получить немедленный ответ клетки на изменения условий среды, выражающиеся в изменении концентрации промежуточных продуктов или коферментов. Например, увеличение потребности клетки в АТФ приводит к повышению скорости гликолиза в мышечных клетках.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

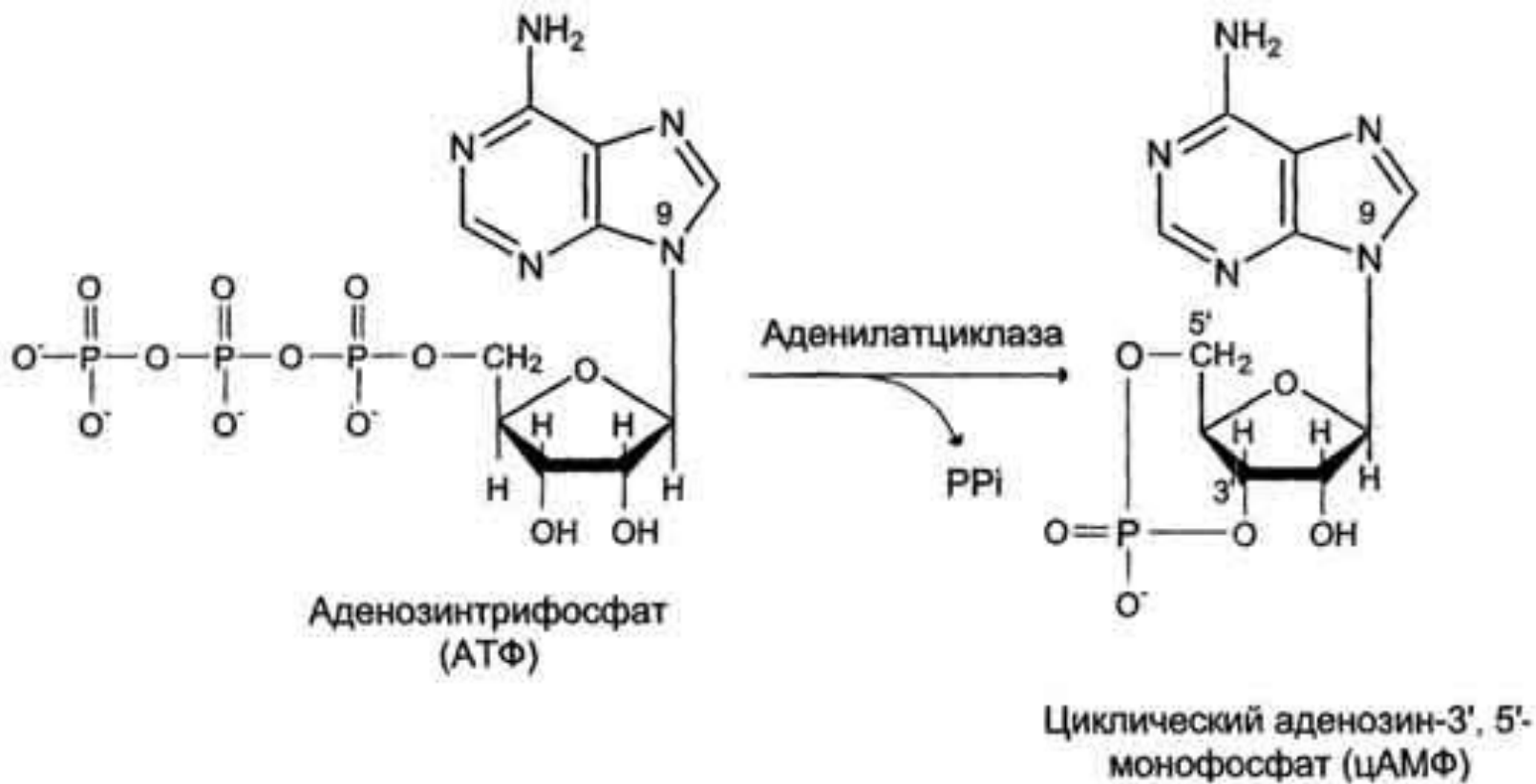
**Индукция или репрессия** синтеза ферментов приводит к изменению количества ферментов и, значит, скорости метаболизма. Подобным способом обеспечиваются долговременные, адаптивные изменения метаболизма. Индукция и репрессия синтеза ферментов могут происходить в клетках в результате влияния на них некоторых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



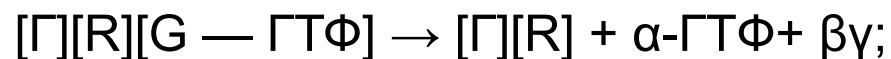
### Образование цАМФ



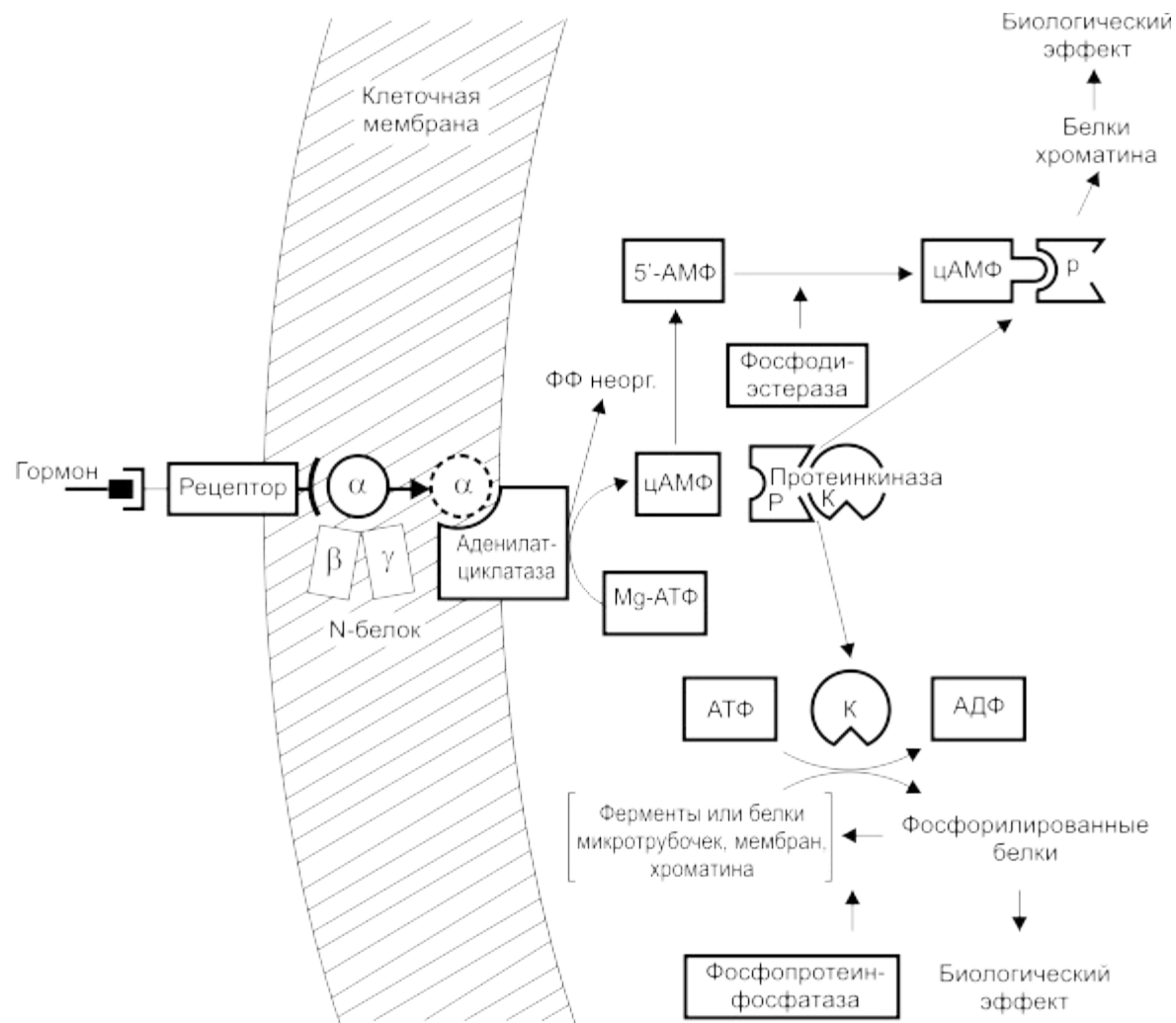
Функционирование системы трансмембранной передачи сигналов обеспечивают белки:  $R_s$  — рецептор сигнальной молекулы, которая активирует аденилатциклазу,  $R_i$  — рецептор сигнальной молекулы, которая ингибирует аденилатциклазу;  $G_s$  — стимулирующий и  $G_i$  — ингибирующий аденилатциклазу белок;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

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

- связывание активатора аденилатциклазной системы, например гормона ( $\Gamma$ ) 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  $\alpha$ -субъединицы  $G_s$ -белка к ГДФ и увеличивает сродство к ГТФ. ГДФ замещается на ГТФ;
- это вызывает диссоциацию комплекса. Отделившаяся субъединица  $\alpha$ , связанная с молекулой ГТФ, обладает сродством к аденилатциклазе:



- взаимодействие  $\alpha$ -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  $\alpha$ -субъединицы. Протекает реакция дефосфорилирования ГТФ, и один из продуктов реакции — неорганический фосфат ( $\text{P}_i$ ) отделяется от  $\alpha$ -субъединицы; скорость гидролиза определяет время проведения сигнала;
- образование в активном центре  $\alpha$ -субъединицы молекулы ГДФ снижает его сродство к аденилатциклазе, но увеличивает сродство к  $\beta$ - и  $\gamma$ -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  $G_{\text{plc}}$  — белок, активирующий фосфолипазу C, а также белки и ферменты мембран цитозоля, участвующие в связывании и транспорте  $\text{Ca}^{2+}$ .

Последовательность событий, приводящих к активации фосфолипазы C:

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

## Инозитолфосфатная система

Это вызывает диссоциацию комплекса;  $\alpha$ -GTP взаимодействует с фосфолипазой C и активирует ее. Субстратом этого фермента является фосфатидилинозитолбисфосфат (ФИФ<sub>2</sub>). В результате гидролиза ФИФ<sub>2</sub> 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 Ca<sup>2+</sup>-канала мембраны ЭР, он изменяет конформацию и канал открывается — Ca<sup>2+</sup> поступает в цитозоль. В отсутствие в цитозоле ИФ-3 канал закрыт.

## Инозитолфосфатная система

Повышение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле клетки увеличивает скорость взаимодействия  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$ , он имеет 4 центра для связывания  $\text{Ca}^{2+}$ . 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  $\text{Ca}^{2+}$  в клетке до исходного уровня работают системы  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз и транслоказ (антипорт).

При повышении в клетке концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  увеличивается активность  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы (Е):

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

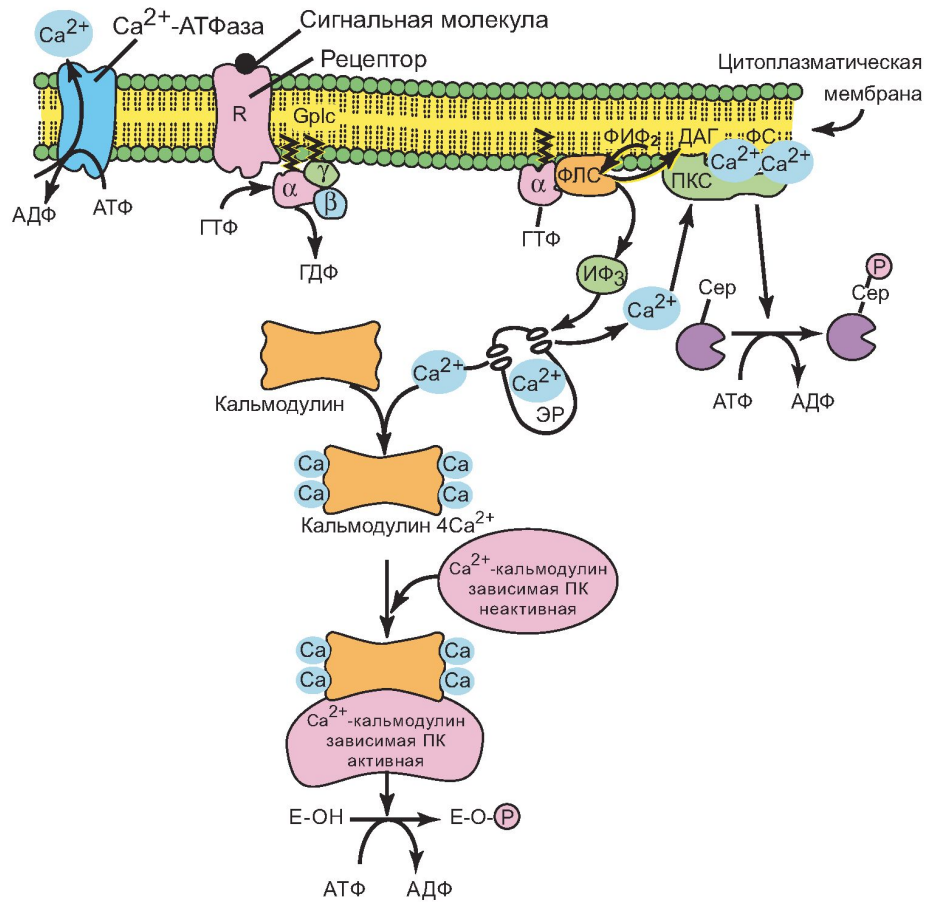


Активность транслоказ  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-аз может регулироваться:

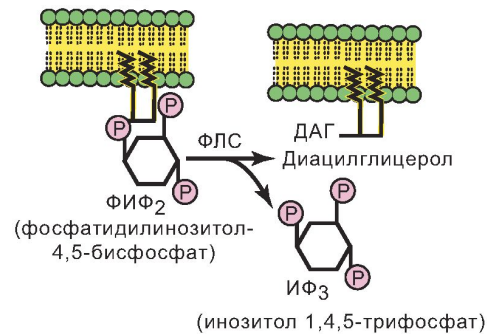
- комплексом [кальмодулин][ $4\text{Ca}^{2+}$ ];
- ПКА (фосфорилированием);
- ПКС (фосфорилированием), а также зависит от структуры и состава липидного бислоя мембраны.

Присутствующие в цитозоле ИФ-3 и ДАГ в мембране могут в результате серии реакций опять превращаться в  $\text{ФИФ}_2$ . Активная ПКС стимулирует образование  $\text{ФИФ}_2$ .

# ИНОЗИТОЛФОСФАТНАЯ СИСТЕМА

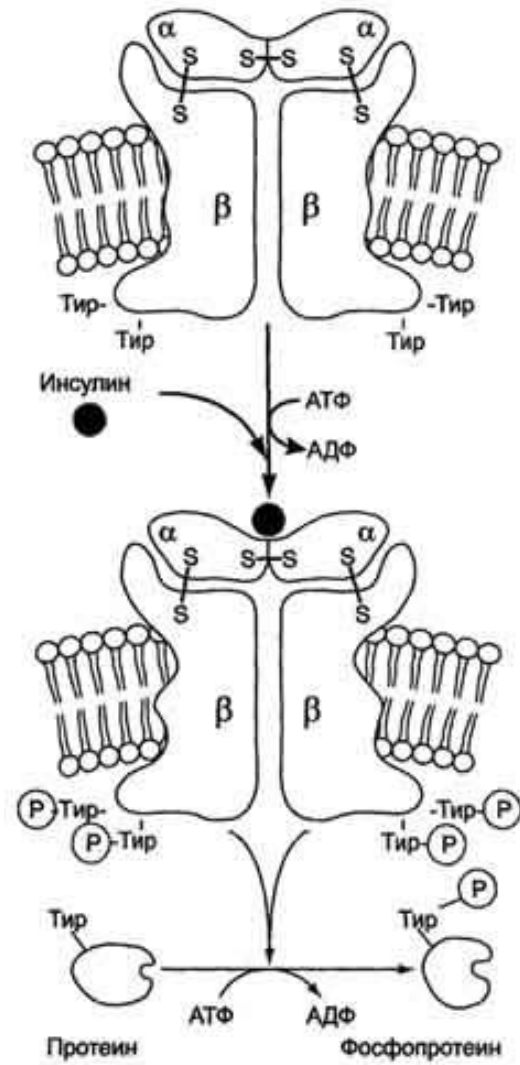


## ГИДРОЛИЗ ФОСФАТИДИИНОЗИТОЛБИСФОСАТА (ФИФ<sub>2</sub>)



## Трансдукция сигнала через инсулиновый рецептор

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



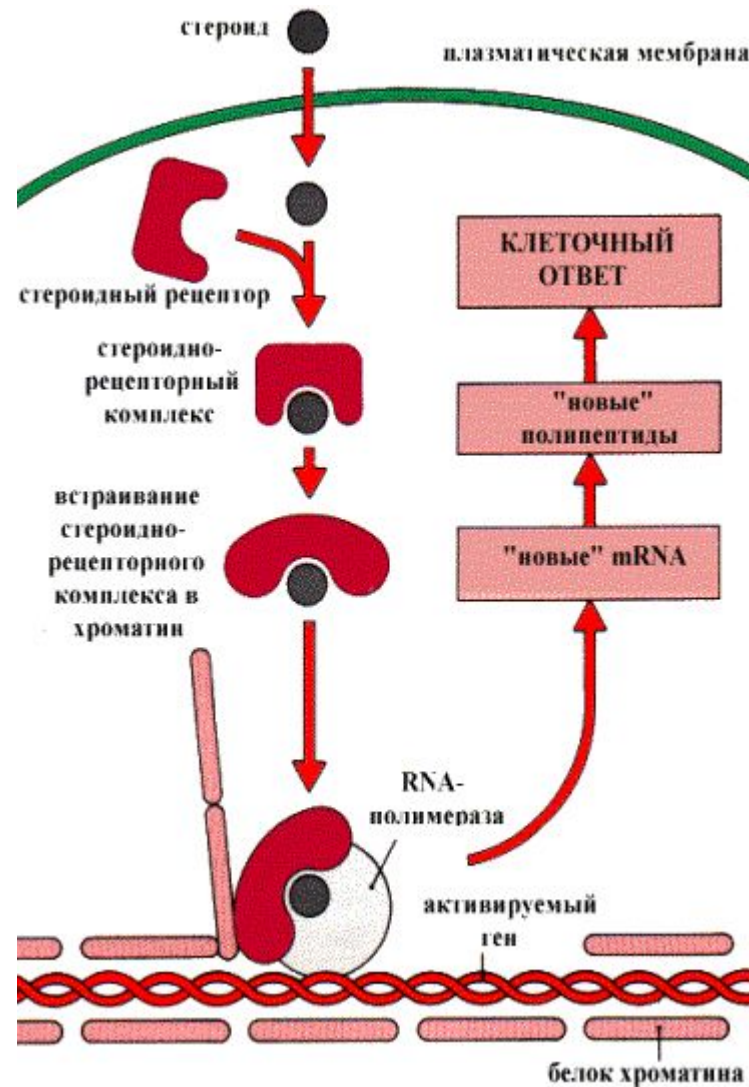
**Активации рецептора инсулина — тирозиновой протеинкиназы**

## Трансдукция сигнала через инсулиновый рецептор

Каталитический центр ТП находится на внутриклеточных доменах  $\beta$ -субъединиц. Присоединение инсулина к центру связывания на  $\alpha$ -субъединицах активирует аутофосфорилирование  $\beta$ -субъединиц, причем субстратом служит сама ТП.  $\beta$ -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**