

РЕГУЛЯЦИЯ КЛЕТОЧНОЙ АКТИВНОСТИ

ВВЕДЕНИЕ. Роль регуляторных механизмов для жизнедеятельности клетки. Основные пути передачи внеклеточного сигнала. Возможности направленной регуляции клеточной активности для целей медицины и биотехнологии. Принципы нейрогуморальной регуляции.

ЛИГАНД-РЕЦЕПТОРНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ. Функциональная роль мембранных рецепторов. Типы рецепторов. Математические способы расчета молекулярных взаимодействий. Вторичные месенджеры. Основные регуляторные механизмы клетки.

МОДУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ ЦИКЛИЧЕСКИХ НУКЛЕОТИДОВ В РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОЙ АКТИВНОСТИ. cAMP и аденилатциклаза. Функциональная роль G-белков в передаче трансмембранного сигнала. cAMP-зависимая протеинкиназа. cGMP и гуанилатциклаза. Окись азота, внутриклеточные функции и молекулярные мишени.

МОДУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ ЛИПИДОВ В РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОЙ АКТИВНОСТИ.

Функциональная роль мембранных фосфолипидов. Фосфолипазы и их регуляторная роль. Фосфоинозитидзависимая сигнальная система. Фосфолипаза D. Диацилглицериды и инозитфосфаты, ферменты их метаболизма. Биологические эффекты, опосредуемые гидролизом фосфоинозитидов. Фосфолипаза A2. Каскад арахидоновой кислоты. Простагландины и эйкозаноиды. Производные фосфотидилхолина как вторичные месенджеры. Сфинголипиды. Система кальциевой регуляции. Кальмодулин.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ: АДФ-рибозилирование, метилирование, ацилирование, фосфорилирование. Протеинкиназы. Роль протеинкиназы C в регуляции метаболизма.

КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ. Молекулярные механизмы пролиферации. Регуляция клеточного цикла, роль циклинов, циклин-зависимых киназ. Модуляция процессов регуляции клеточного цикла внешними сигналами. Влияние факторов роста. Протоонкогены, участвующие в регуляции клеточного цикла.

РЕГУЛЯЦИЯ КЛЕТОЧНОЙ АКТИВНОСТИ

МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ РОСТА. Факторы роста нервов, фибробластов, эпидермиса и др. Взаимосвязь систем клеточной регуляции.

ОСНОВНЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЕ ЧЕЛОВЕКА И ГОРМОНАХ. Классификация, биологическое действие. Рецепторы и механизмы передачи сигналов. Гормоны гипоталамуса и гипофиза. Йодтиронины. Кортикостероидные гормоны. Катехоламины. Гормоны поджелудочной железы. Инсулин и глюкагон

ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ. Основные представления о превращении энергии в организме. Регуляция гликолиза и глюконеогенеза в клетках печени с участием инсулина и глюкагона. Глюкокортикоиды в регуляции углеводного обмена. Биосинтез и мобилизация гликогена в печени и мышцах. Механизмы регуляции синтеза и распада гликогена под действием адреналина, инсулина и глюкагона. Гормональная регуляция водно-солевого обмена (вазопрессин, альдостерон, система ренин-ангиотензин-альдостерон, предсердный натрийуретический фактор). Роль гормонов в регуляции обмена кальция и фосфатов (паратгормон, кальцитриол, кальцитонин). Роль гормонов в регуляции репродуктивной функции. Биологические эффекты гонадотропных гормонов. Основные представления о женских и мужских половых гормонах; биологическое действие половых гормонов.

НЕРВНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ. Передача нервного импульса. Потенциал действия. Электро- и хемовозбудимые системы нервной клетки. Ионные каналы (натриевый, кальциевый, калиевый). Общие принципы структурной организации электровозбудимых ионных каналов. Нейрорецепторы (рецепторы ацетилхолина, гамма-аминомасляной кислоты, глутаматные). Синапс, синаптическая передача. Нейромедиаторы: биогенные амины, нейропептиды (эндорфины и энкефалины, вещество Р, пептид сна). Бензодиазепины. Молекулярный механизм секреции нейромедиатора. Методы изучения молекулярных механизмов нервного возбуждения.

МЕДИЦИНСКАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ

Хомяков Ю.Н., д.б.н. ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ЭНДОЦИТОЗА. РОЛЬ ЭНДОЦИТОЗА В РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ. Понятие эндоцитоза, этапы, пиноцитоз, фагоцитоз, экзоцитоз. Энергетическая характеристика процесса. Клатриновый аппарат, адапторный комплекс, скорость эндоцитоза, внутриклеточный транспорт, межклеточный транспорт. Механизм эндоцитоза в патогенезе инфекционных заболеваний. Рецепторы к патогенам. Вирусные инфекции.

Федоров А.Н., д.б.н. ГЕНОИНЖЕНЕРНЫЕ ПОДХОДЫ В СОВРЕМЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ. Основные подходы к эффективной экспрессии белков и полипептидов, их получение в растворимых функциональных формах, принципы ренатурации белков. Системы экспрессии. Фьюжн-конструкции. Особенности очистки белков из телец включения и в растворимой форме. Методы повышения уровня экспрессии.

Хомяков Ю.Н., д.б.н. ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ В СОВРЕМЕННОМ МИРЕ. Новые и возвращающиеся инфекции, особо-опасные природно-очаговые инфекции, глобальное потепление и молекулярная эпидемиология, патоген-распознающие рецепторы, проблемы молекулярной диагностики и выбора стратегии лечения, антибиотики и антибиотикоустойчивость, существуют ли противовирусные препараты, молекулярная биотехнология производства вакцин

Посыпанова Г.А., д.б.н. ПРИМЕНЕНИЕ КУЛЬТУР КЛЕТОК В РАЗЛИЧНЫХ НАУЧНЫХ И ПРАКТИЧЕСКИХ ОБЛАСТЯХ. Клетки многоклеточного организма и их разнообразие. Культивирование клеток, состав сред для выращивания. Первичные, иммортализованные и трансформированные культуры. Суспензионные и монослойные культуры. Старение культур. Методы изучения клеток животных. Конфокальная микроскопия, проточная цитометрия, иммунохимические методы. Преимущества культуры клеток. Области использования: генетика, иммунология, биотехнология, скрининг и изучение механизма действия лекарственных препаратов.

Семочкина Ю.П. МНОЖЕСТВЕННАЯ ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ И ПУТИ ЕЕ ПРЕОДОЛЕНИЯ. Типы МЛУ (нарушение транспорта препарата, активность детоксицирующих систем GSH-GST, активация систем репарации ДНК, изменение экспрессии онкогенов и генов, отвечающих за развитие апоптоза, повреждение систем сигнальной трансдукции), ее значение для клеток и организмов. Первичная и приобретенная МЛУ. ABC-транспортёры, строение, свойства, механизм действия. Пути преодоления МЛУ: Механизмы резистентности опухолевых стволовых клеток.

МЕДИЦИНСКАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ

Москалева Е.Ю., д.б.н., профессор. БИОТЕХНОЛОГИЯ ДЛЯ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ. СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ, КЛЕТКИ ЭФФЕКТОРЫ И КЛЕТОЧНЫЕ ВАКЦИНЫ В МЕДИЦИНЕ. Современное состояние проблемы. Стволовые клетки разных типов в регенеративной медицине. Использование аутологических и аллогенных стволовых кроветворных клеток в медицине. Использование мезенхимальных стволовых клеток. Методы трансплантации стволовых клеток и стимуляции миграции стволовых клеток для стимуляции регенераторных процессов. Типы иммунокомпетентных клеток, методы их идентификации и культивирования. Функции иммунокомпетентных клеток в организме. Клеточные технологии с использованием иммунокомпетентных клеток. Адоптивная иммунотерапия. Клеточные вакцины. Рекомбинантные цитокины. Клеточные технологии для получения рекомбинантных белков. Биомедицинская инженерия

Заварзина В.В, Яббаров Н.Г. к.б.н. СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ. ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ И ДЕНДРИМЕРОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ. Типы систем доставки, основные методы получения наночастиц, физические подходы к получению наночастиц, методы исследования их физико-химические свойств. Факторы, влияющие на релиз лекарственного препарата. Наночастицы направленного действия. Виды дендритных молекул, их строение, основные методы синтеза. РАММ и РР1 дендримеры. Дендримеры как универсальная система доставки лекарственных препаратов. Взаимодействие с клеточными мембранами. Особенности биораспределения дендримеров. Направленные системы доставки лекарственных препаратов на основе дендримеров. Создание вакцин на основе дендримеров. Транспорт нуклеиновых кислот.

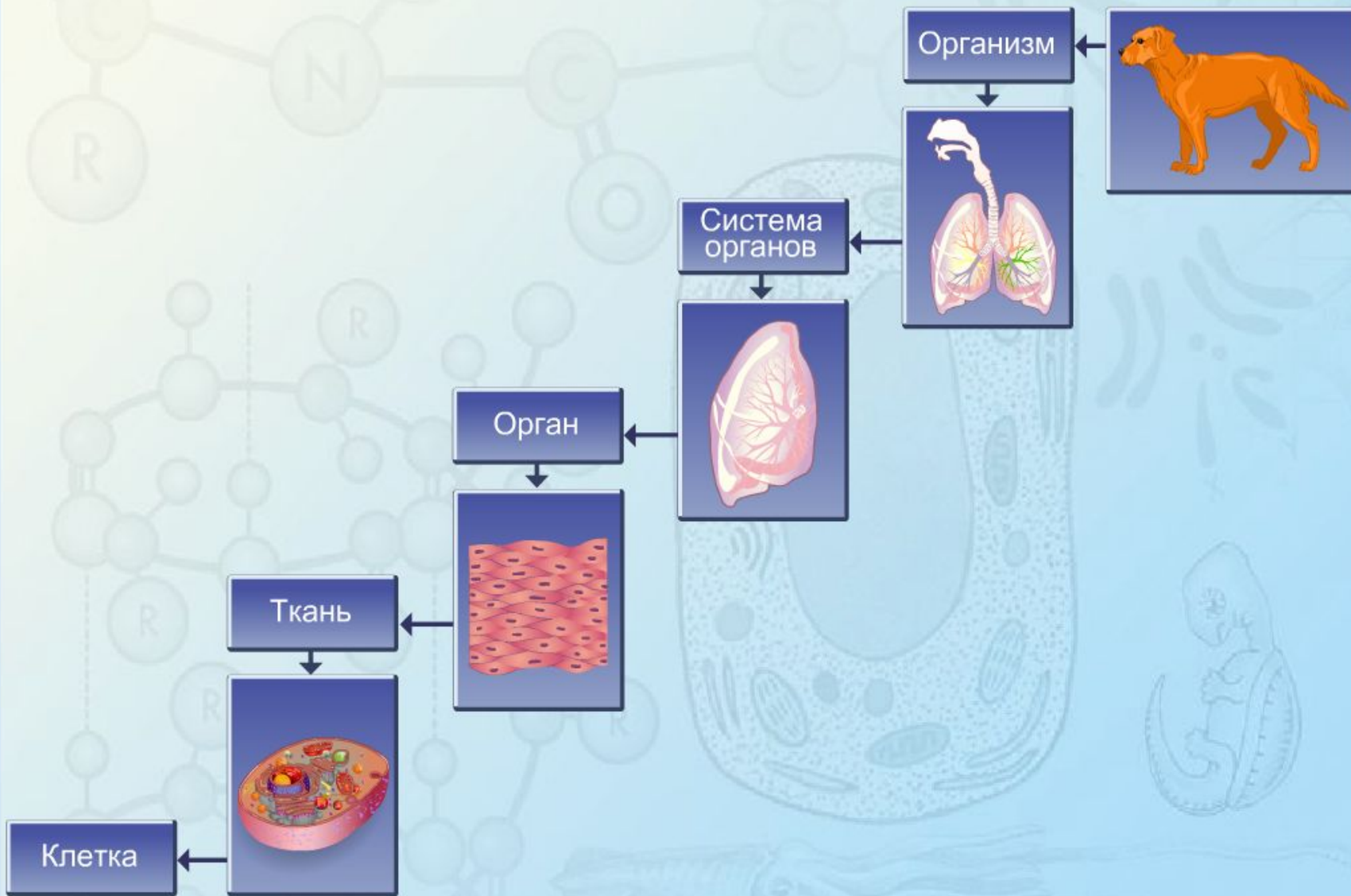
Пантелеев А.А., к.б.н. РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА

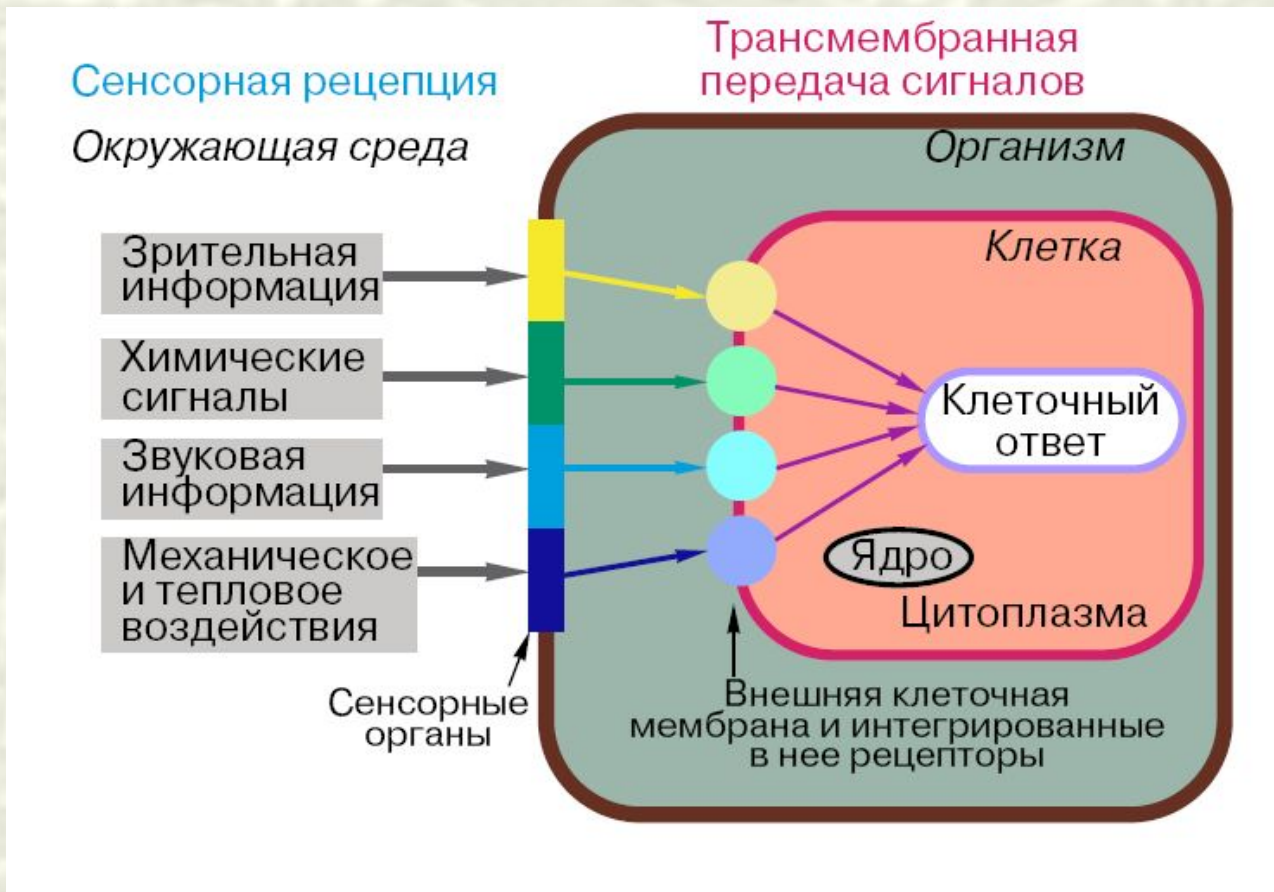
Глухов А.И., д.б.н., профессор. ДНК-ДИАГНОСТИКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПЦР. СВОЙСТВА И РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ТЕЛОМЕРАЗЫ ЧЕЛОВЕКА. Полимеразная цепная реакция: принцип метода, модификации метода, ПЦР в реальном времени; применение в медицине. Разработка амплификационных тест-систем для анализа инфекционных патогенов, генетических и онкологических заболеваний. Теломераза и теломерные повторы. Молекулярные механизмы "бессмертия" (иммортальности) клеток. Регуляция и анализ активности теломеразы. Теломераза и рак. Теломераза – универсальный опухолевый маркер. Теломераза – мишень для воздействия генофармакологических препаратов.

Москалева Е.Ю., д.б.н., профессор. ПРОГРАМИРОВАННАЯ КЛЕТОЧНАЯ ГИБЕЛЬ. Возможные пути гибели клетки. Некроз и апоптоз. Причины, вызывающие апоптоз. Молекулярные механизмы индукции, развития, регуляции и отмены апоптоза. Система Fas/FasL в регуляции апоптоза. Белок p53 в регуляции апоптоза. Каспазы и их роль в реализации апоптоза. Сигнальные каскады с участием каспаз. Семейство белков Bcl-2. Роль митохондрий и цитохрома C. Сборка комплексов и взаимная активация каспаз. Значение явления апоптоза для практической медицины.

Хомяков Ю.Н., д.б.н. МАЛЫЕ РНК. Структура, функции. РНК-интерференция. РНК-зависимая активация генов. Формирование RISC комплекса. Экспериментальные подходы к изучению. Возможные применения siРНК (генная терапия вирусных и онкологических заболеваний, функциональная геномика).

Структурные единицы организма





Переход из одного состояния системы в другое осуществляется за счет изменения значений параметров входных сигналов с учетом внешних воздействий.

Тип регуляции

Нервная

Гуморальная

Быстродействие

Быстрая

Медленная

Принцип работы:

Электричество

Диффузия

Носитель:

Нервы

Жидкие среды

Действующее вещество:

Медиаторы

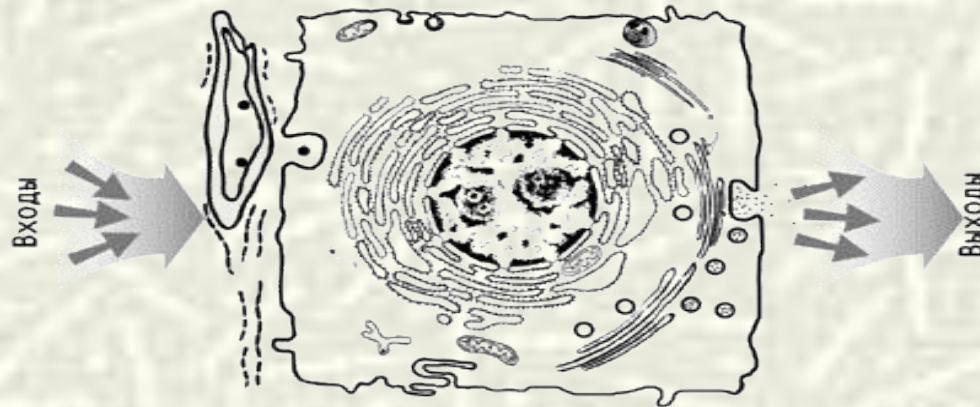
Гормоны

Происхождение:

Молодая

Древняя

Клетка – открытая динамическая система, содержащая множество входов и выходов



В процессе жизнедеятельности клетка выполняет две основные задачи: обеспечивает поддержание стабильности **жизнеобеспечения** клеточной системы и реализует **специфические функции**, присущие определенному виду клеток

Каждая система, в том числе и система клетки, в любой момент времени находится в определенном состоянии, характеризуемом набором конкретных значений ряда параметров. Переход из одного состояния системы в другое осуществляется за счет изменения значений параметров входных сигналов с учетом внешних воздействий. Так поступление внешнего стимула (света, шума) на рецепторную клетку приводит к изменению ее состояния (возбуждению), активации различных биохимических процессов. Например, при избыточном поступлении кислорода в организм, происходит увеличение содержания кислорода в крови и соответствующая активация некоторых процессов в клетке (например, дыхания). Клетка начинает усиленно работать.

Системная модель клетки. Разделение функций клетки



Основные функции клетки = Поддержание стабильности подсистемы жизнеобеспечения + выполнение специфических функций

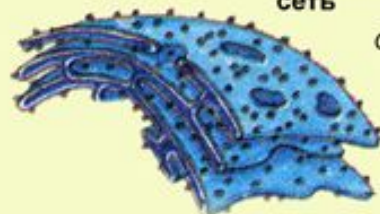
КЛЕТКА И КЛЕТОЧНЫЕ ОРГАНЕЛЛЫ



Гладкая эндоплазматическая сеть
синтез липидов и углеводов



Ядро
хранение и реализация наследственной информации



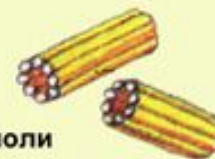
Шероховатая эндоплазматическая сеть
Синтез белков



Микротрубочки
Образование цитоскелета



Клеточная мембрана
транспорт веществ в/из клетки, защита, рецепция



Центриоли
Участие в делении клетки

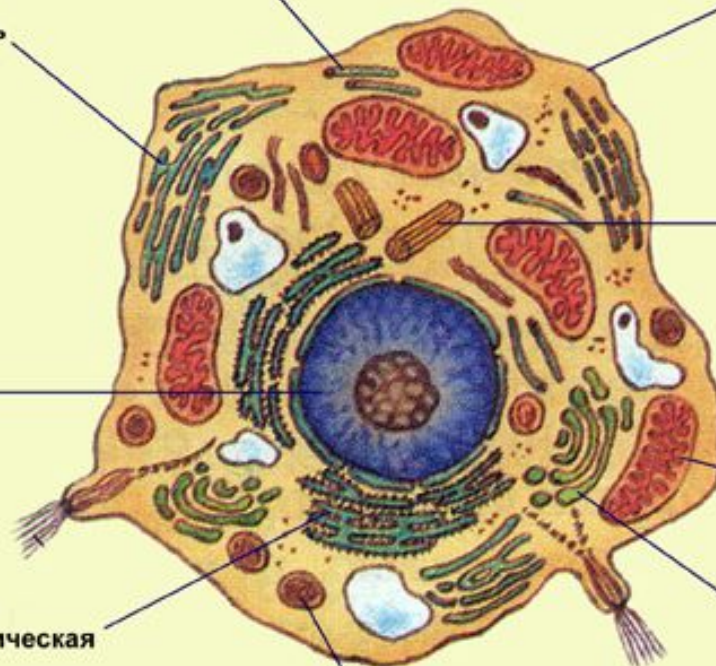


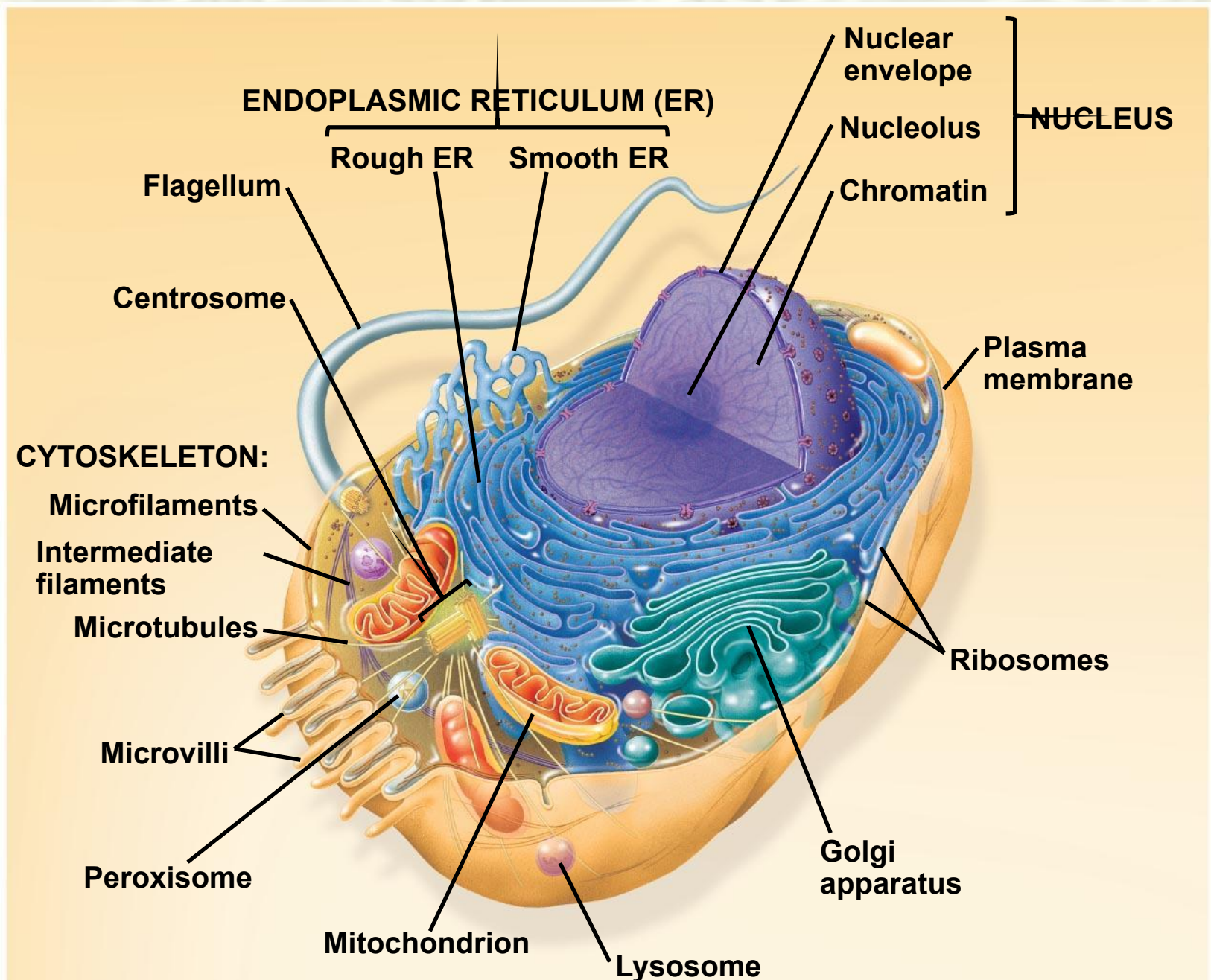
Митохондрия
Синтез АТФ



Лизосомы
переваривание веществ

Комплекс Гольджи
Транспорт веществ





Название элемента	Локализация и характеристика	Структура, состав	Основные функции
Ядро	Чаще расположено в центре клетки; заполнено нуклеоплазмой (вода, белки, нуклеотиды, РНК, ферменты)	Округлое образование, ограниченное двухмембранной оболочкой, содержащей множество пор (до 3/4 поверхности оболочки!)	Содержит генетическую информацию в виде хромосом (хроматина); посредством генов регулирует белковый синтез
Клеточная мембрана (цитолемма)	Оболочка клетки, отграничивающая ее от других структур (клеток, волокон, межклеточного вещества)	Двойной слой липидов с погруженными в него белками и находящимся на его поверхности слоем полисахаридов	– транспортная; – рецепторная; – межклеточные соединения; – барьерная; – взаимодействие с другими клетками и структурами
Хромосомы	X-образные нитевидные структуры (23 пары), погруженные в нуклеоплазму.	Компактно “упакованные” нити ДНК, приобретающие такую форму только на этапе деления клетки	Носители генетической информации. Передают ее поровну дочерним клеткам в процессе деления (митоза)
Ядрышки (одно или несколько)	Плотные структуры, расположенные в центре ядра; производное хроматина	Безмембранные структуры, состоящие из фибрилл (волокон) и петель хроматина	Место образования рибосомных РНК; участвует в синтезе белка (ДНК – донор информации)
Цитоплазма	Внутреннее содержимое клетки (за исключением ядра)	Состоит из гиалоплазмы, клеточных органелл и включений	Смотри функции гиалоплазмы и клеточных органелл
Гиалоплазма (матрикс)	Основное вещество цитоплазмы, в которое погружены клеточные органеллы и включения	Коллоидная система, состоящая из воды (80%), белков, солей, аминокислот, полисахаридов и др. соединений	Заполняя внутриклеточное пространство, объединяет различные структуры клетки и обеспечивает их взаимодействие

Клеточные органеллы (находятся в гиалоплазме)

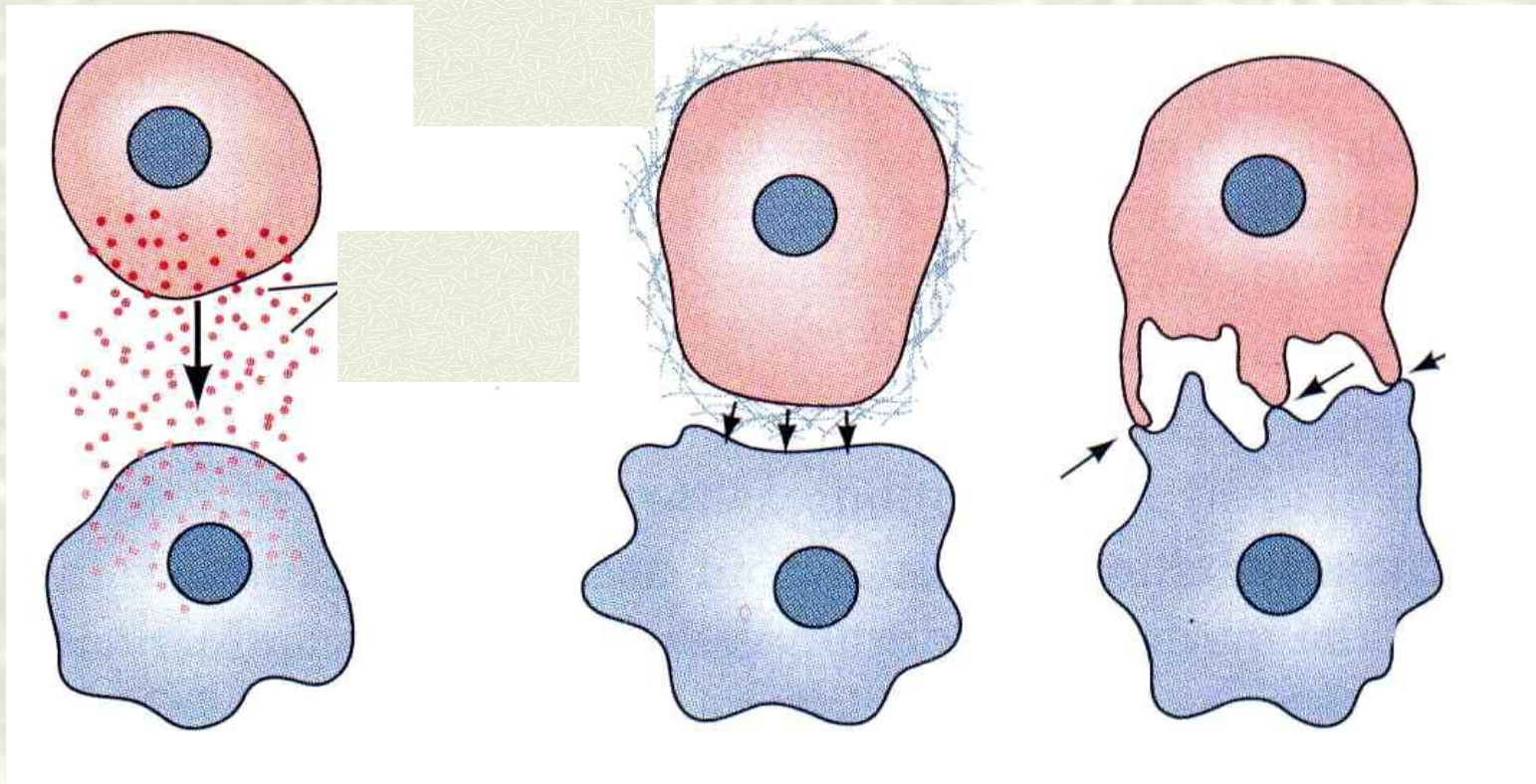
<p>Митохондрии (от 1 до нескольких сотен в одной клетке)</p>	<p>Палочковидные или шарообразные двухмембранные структуры. Их число определяется "специализацией" клетки</p>	<p>Наружная мембрана имеет ровные контуры, внутренняя образует складки, гребни (кристы)</p>	<p>"Энергетические станции клетк": аккумуляция энергии в виде АТФ, обеспечение клетки энергией в соответствии с ее потребностями</p>
<p>Эндоплазматическая сеть гладкая (агранулярная)</p>	<p>Мембранная органелла, имеющая собственное ферментное содержимое</p>	<p>Комплекс сообщающихся между собой пузырьков, плоских мешков и трубочек</p>	<p>Метаболизм липидов, некоторых полисахаридов. Разрушает вредные для клетки вещества</p>
<p>Эндоплазматическая сеть шероховатая (гранулярная)</p>		<p>Часть эндоплазматической сети, на наружной поверхности которой находятся рибосомы (смотри ниже)</p>	<p>Посредством рибосом участвует в синтезе белка (смотри функции рибосом)</p>
<p>Рибосомы</p>	<p>Гранулы, свободно расположенные в гиалоплазме или фиксированные на поверхности эндоплазматической сети</p>	<p>Состоят из белков и молекул РНК (примерно в равных весовых соотношениях)</p>	<p>Сборка белков из аминокислот в строгом соответствии с генетической информацией</p>
<p>Лизосомы</p>	<p>Замкнутые мембранные структуры (пузырьки). Бывают первичные и вторичные (см. в тексте)</p>	<p>Содержат ферменты, расщепляющие жиры, белки, углеводы, нуклеиновые кислоты</p>	<p>Ферментное расщепление сложных питательных веществ; утилизация и удаление из клетки дефектных органелл</p>
<p>Аппарат (комплекс) Гольджи</p>	<p>Чаще расположен около ядра. Комплекс уплощенных цистерн и мелких пузырьков</p>	<p>Содержит ферменты для синтеза полисахаридов и образования их комплексов с белками (мукопротеидов)</p>	<p>Накопление, "упаковка" и выведение за пределы клетки веществ, синтезированных в эндоплазматической сети. Формирование первичных лизосом</p>

ЖИЗНЬ КЛЕТКИ

КАК КЛЕТКИ ОБЩАЮТСЯ МЕЖДУ СОБОЙ?

Мы узнаем новости по телефону, через Twitter, Facebook или Вконтакте. Живые клетки тоже получают информацию, и для этого у них есть масса возможностей. Одни секретируют гормоны, которые распространяются по всему телу с кровью, другие высвобождают особые вещества, передающие сигналы от одного нейрона другому. Но почти все они общаются со своими ближайшими соседями напрямую, через многочисленные каналы, соединяющие их содержимое.

Способы межклеточной сигнализации.

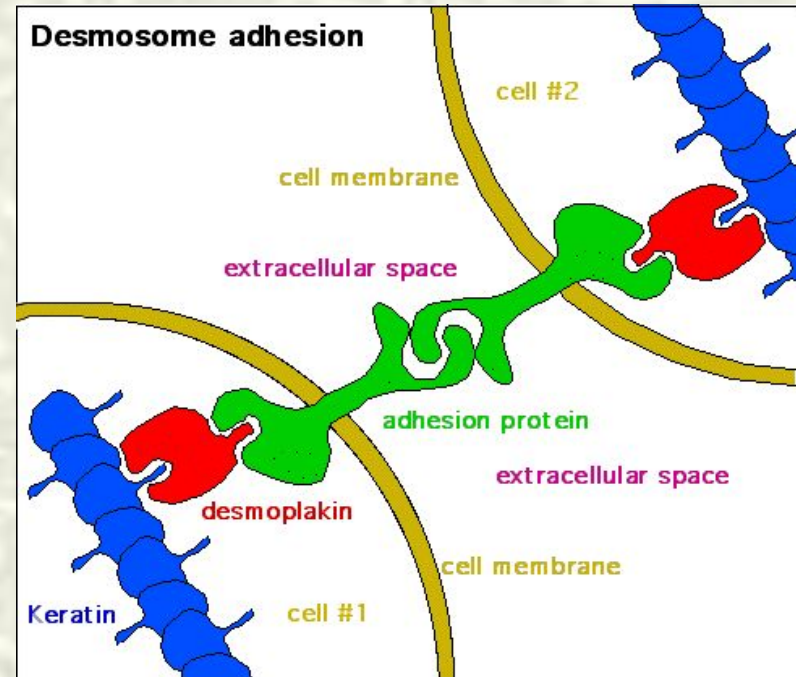


Химическая сигнализация
с помощью
секретируемых молекул

Контактная сигнализация
с помощью **молекул**,
связанных с мембраной

Контактная
сигнализация через
щелевые соединения

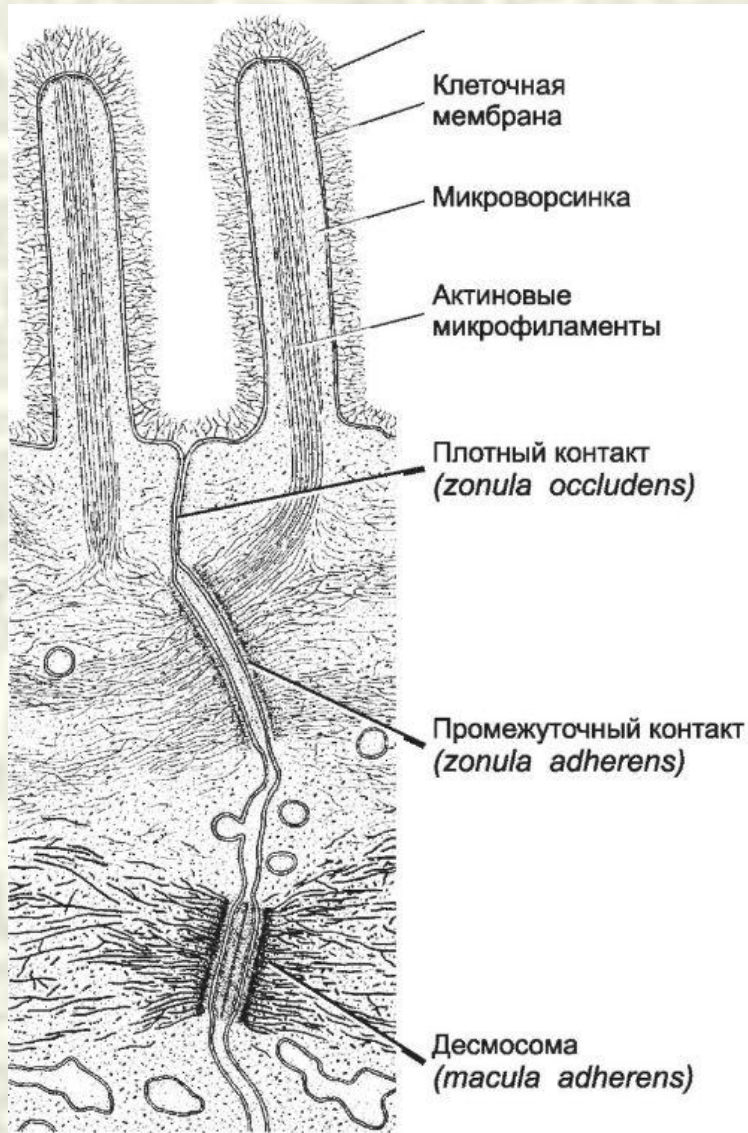
Контактная сигнализация



Десмосомы образуются между клетками тканей, которые могут подвергаться трению, растяжению и др. механическим воздействиям (эпителиальные клетки, клетки сердечной мышцы). Со стороны цитоплазмы к десмосомам прикрепляются промежуточные филаменты, которые формируют в цитоплазме сеть, обладающую большой прочностью. Через десмосомы промежуточные филаменты соседних клеток объединяются в непрерывную сеть, охватывающую всю ткань.

Десмосома состоит из белков клеточной адгезии из семейства кадгеринов и соединительных (адапторных) белков, которые соединяют их с промежуточными филаментами.

Специализированные межклеточные контакты между соседними эпителиальными клетками в слизистой оболочке кишки.



Каждая клетка в пласте эпителия по всей её окружности в апикальной области имеет сплошной пояс плотных контактов, предупреждающих поступление содержимого кишечника в межклеточные щели. Несколько ниже клетки соединены также при помощи промежуточных контактов и десмосом.

Межклеточные контакты: - специализированные клеточные структуры, скрепляющие клетки между собой, создающие барьеры проницаемости и служащие для межклеточной коммуникации.

Схематическое представление процесса адгезии клеток, осуществляемого с помощью кадгеринов

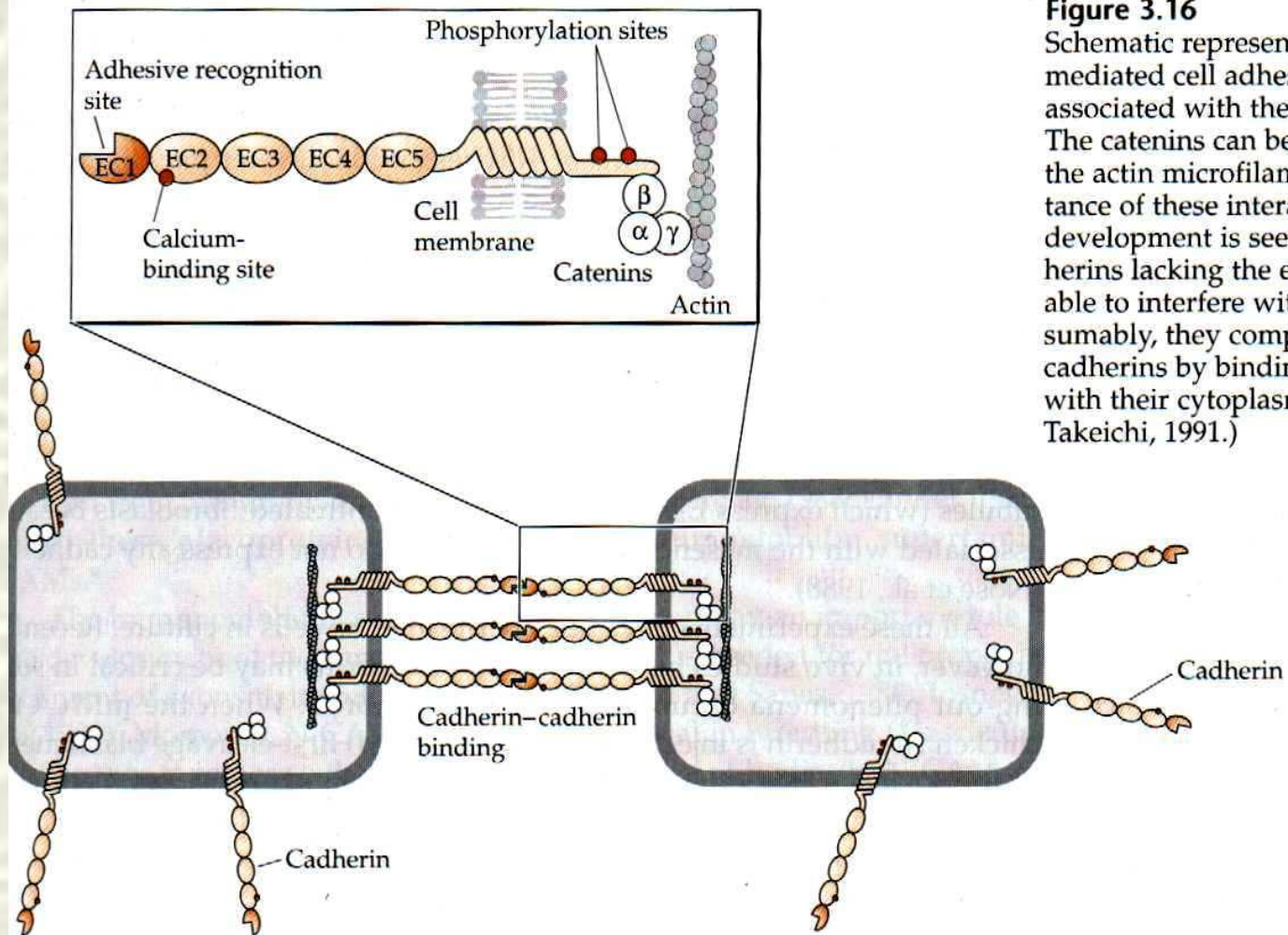
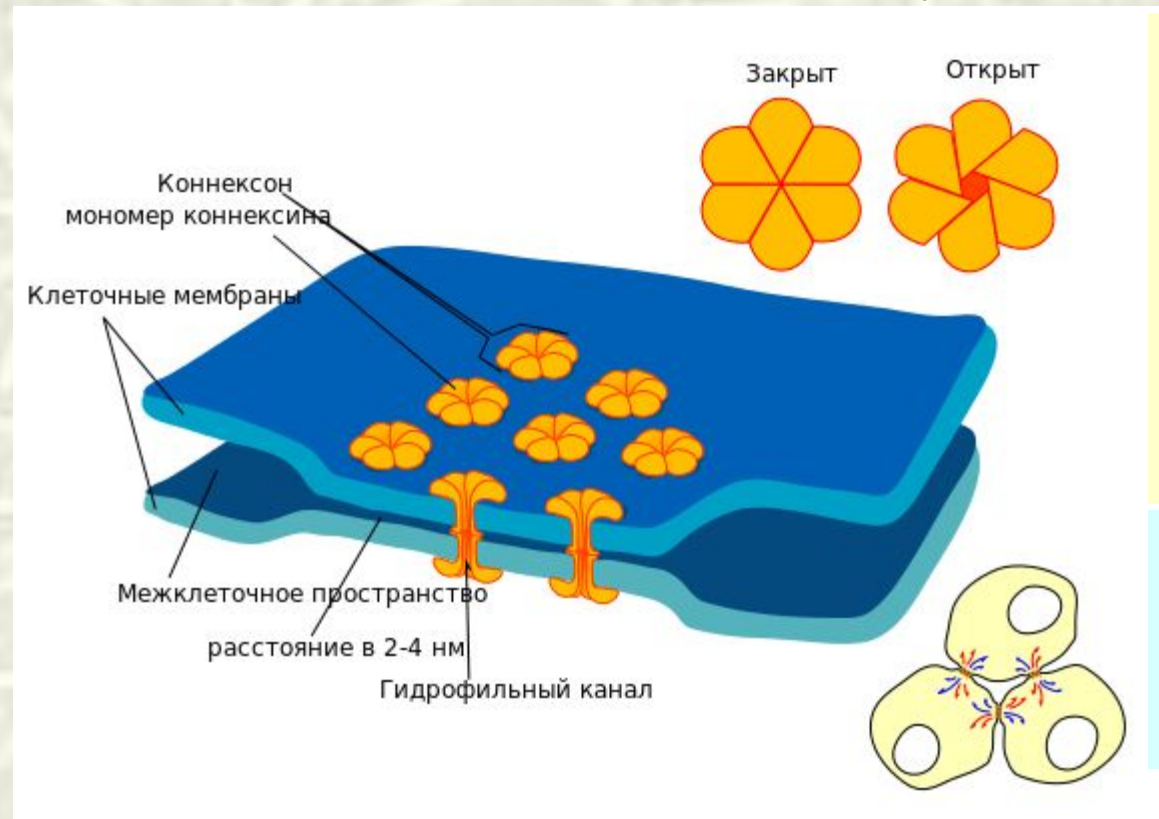


Figure 3.16

Schematic representation of cadherin-mediated cell adhesion. Cadherins are associated with the three types of catenins. The catenins can become associated with the actin microfilament system. The importance of these interactions for normal development is seen in Figure 3.18; cadherins lacking the extracellular domain are able to interfere with development. Presumably, they compete with the normal cadherins by binding the available catenins with their cytoplasmic domains. (After Takeichi, 1991.)

Щелевые контакты

Взаимодействие клеток с помощью белковых каналов. Через щелевые контакты могут непосредственно передаваться от клетки к клетке электрические сигналы (потенциалы действия), а также малые молекулы



Структурную основу щелевого соединения составляют коннексоны – каналы, образуемые шестью белками-**коннексинами**

Через коннексоны передаются электрические сигналы и малые регуляторные молекулы (например, cAMP, InsP3, аденозин, ADP и ATP)

Стимулы к закрытию:

- снижение pH цитоплазмы;
- увеличение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} ;
- слишком сильный перепад мембранного потенциала между двумя клетками

В **нервной системе** щелевые контакты - один из способов передачи возбуждения между нейронами, электрический синапс. В **сердце** щелевые контакты соединяют кардиомиоциты для обеспечения синхронности сокращения всех клеток одного отдела.

С коннексонами так же взаимодействуют тубулины (белки микротрубочек), что может способствовать транспорту различных веществ вдоль микротрубочек непосредственно к каналу

Классификация молекул-сигналов

1. Сигнальные молекулы, построенные из аминокислот

- Сигналы - сложные белки (тиреотропин, гонадотропины)
- Сигналы - простые белки (соматотропин, инсулин)
- Сигналы- пептиды (глюкагон, кортикотропин , факторы роста, цитокины)

2. Производные аминокислот

(адреналин, серотонин, тироксин, мелатонин)

3. Стероиды (производные холестерина и других полиизопренов) (альдостерон, кортизол, ретиноевая кислота, витамин Д)

4. Эйкозаноиды (производные 20-углеродных, полиненасыщенных жирных кислот) (простагландин Е1, тромбоксан А2).

5. Производные фосфолипидов

6. Активные формы кислорода и азота (NO) и углерода(CO)

7. Продукты распада гликозилированных белков (AGE)

Способы межклеточной химической сигнализации.

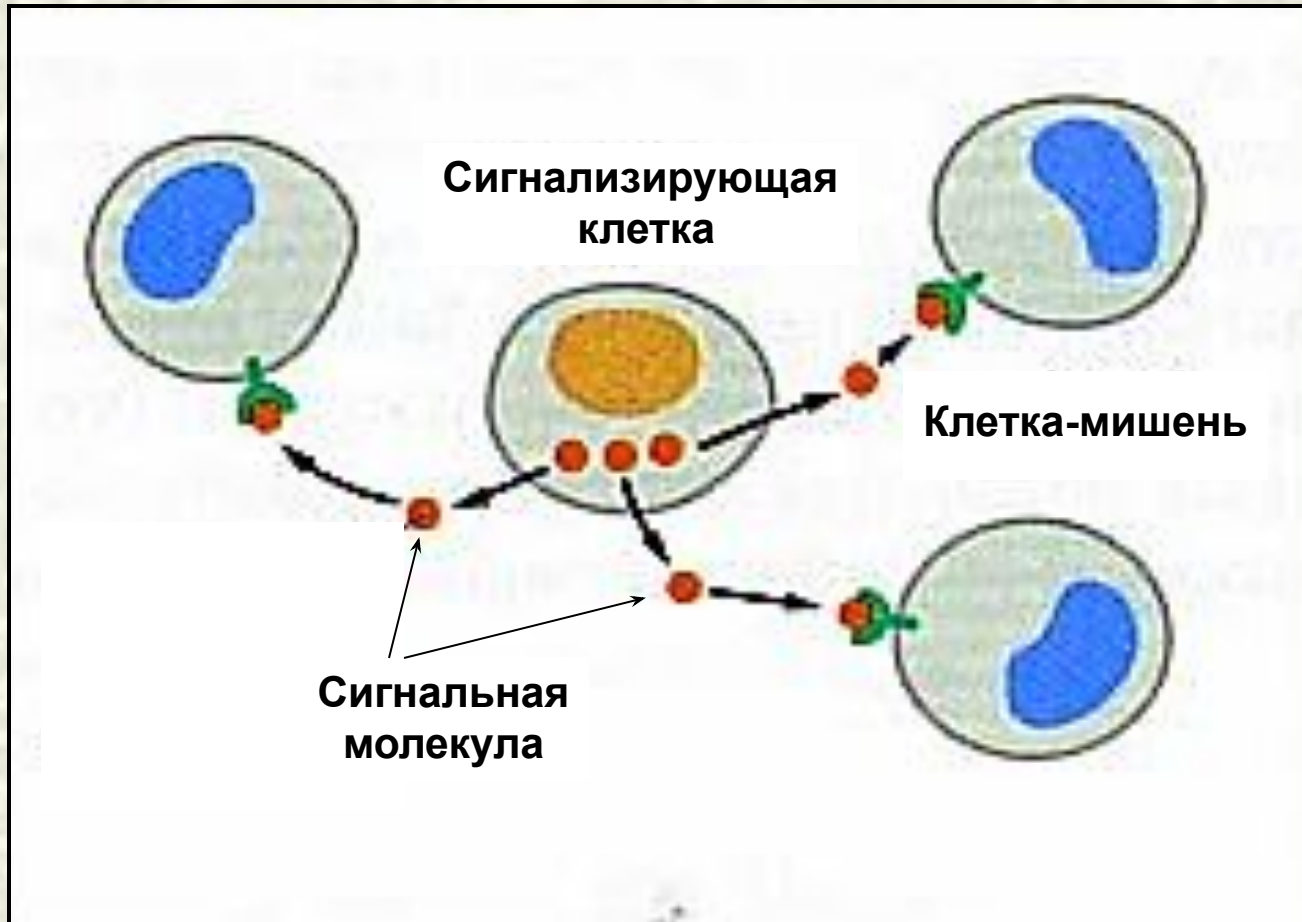
ПАРАКРИННАЯ

ЭНДОКРИННАЯ

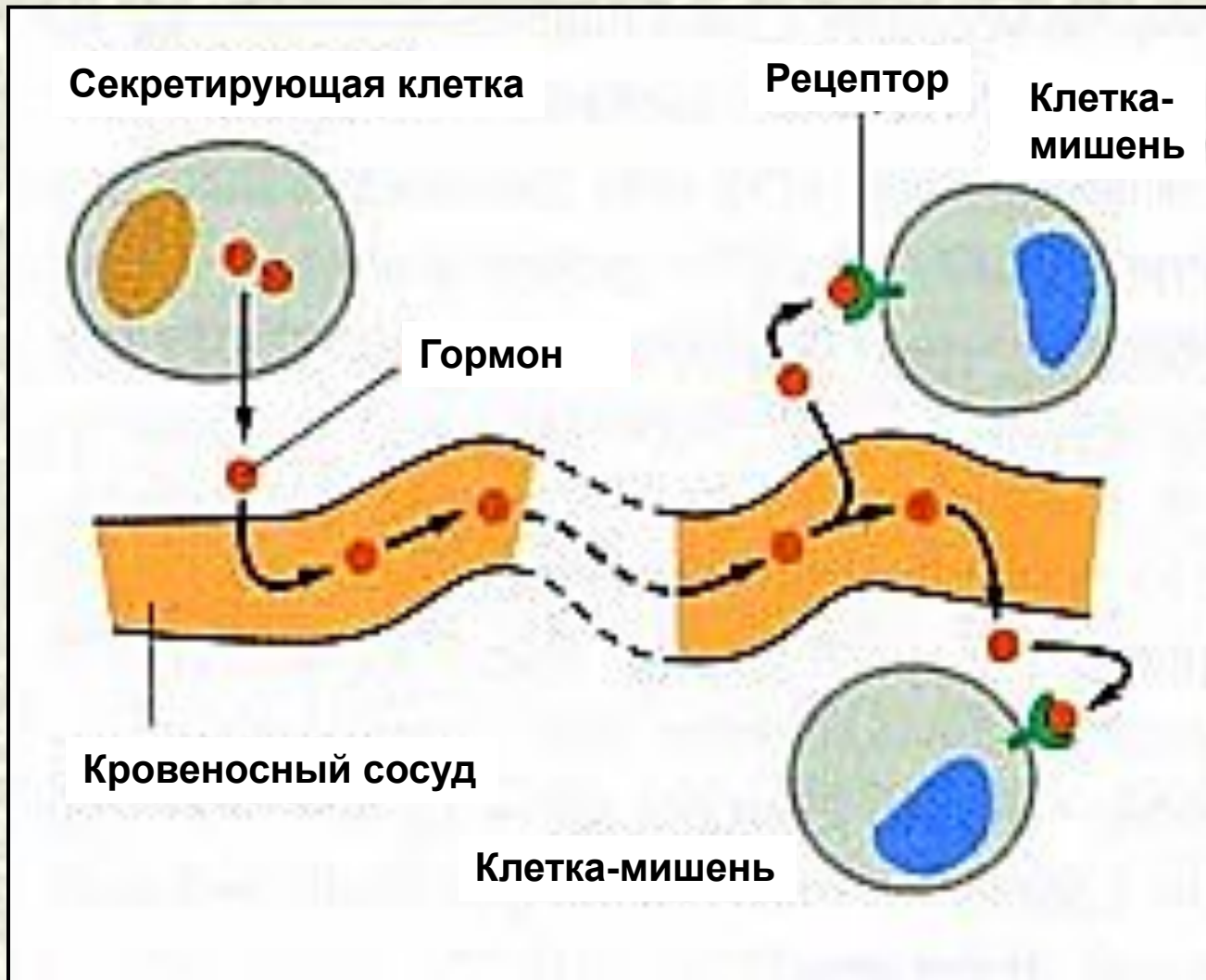
АУТОКРИННАЯ

СИНАПТИЧЕСКАЯ

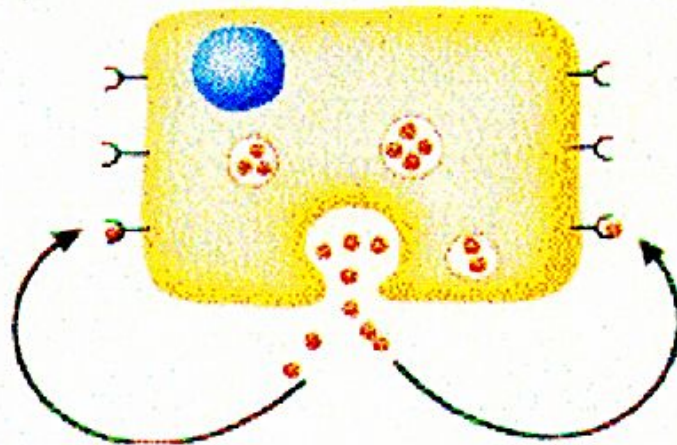
Паракринная сигнализация






Эндокринная сигнализация



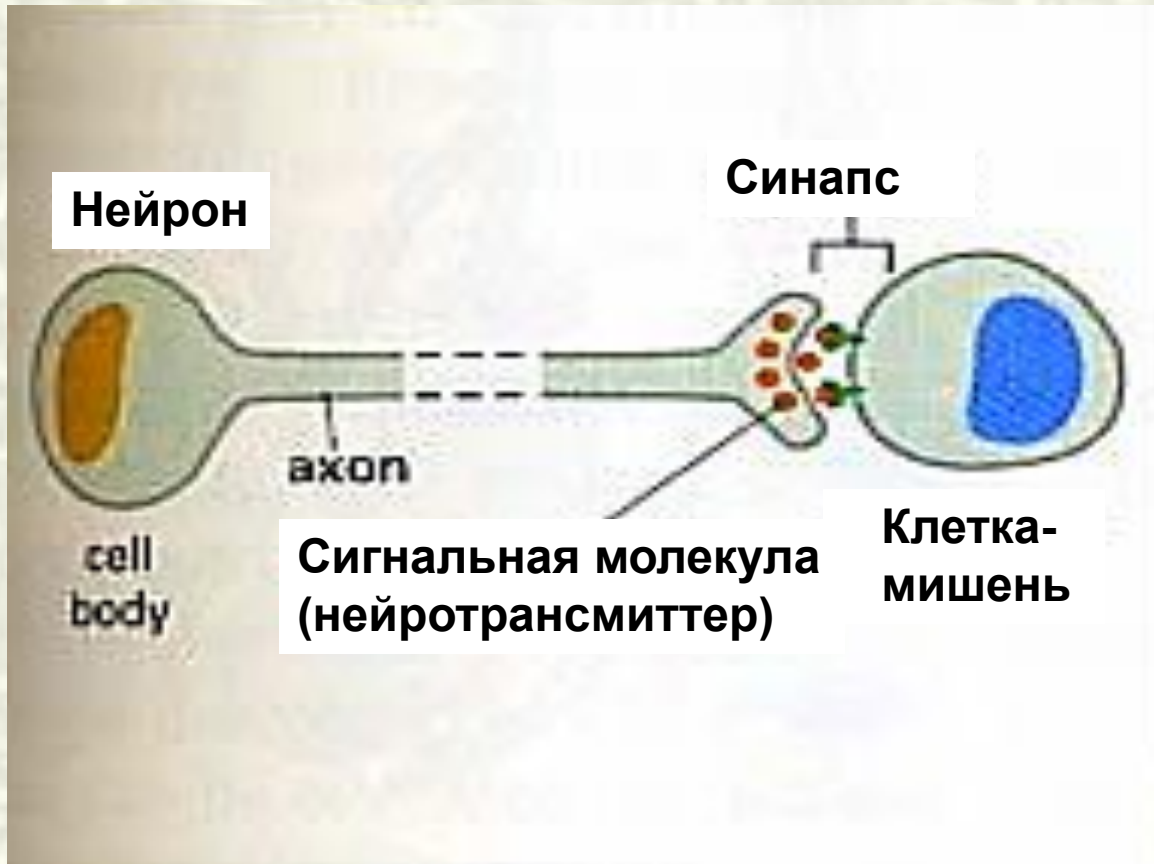
Аутокринная сигнализация



-  Внеклеточный сигнал
-  Рецептор
-  Сигнальная молекула, связанная с мембраной

Рецепторы сигнальной молекулы присутствуют на той же клетке

Синаптическая сигнализация



В связи с получением сигнала клетка должна решить несколько задач:

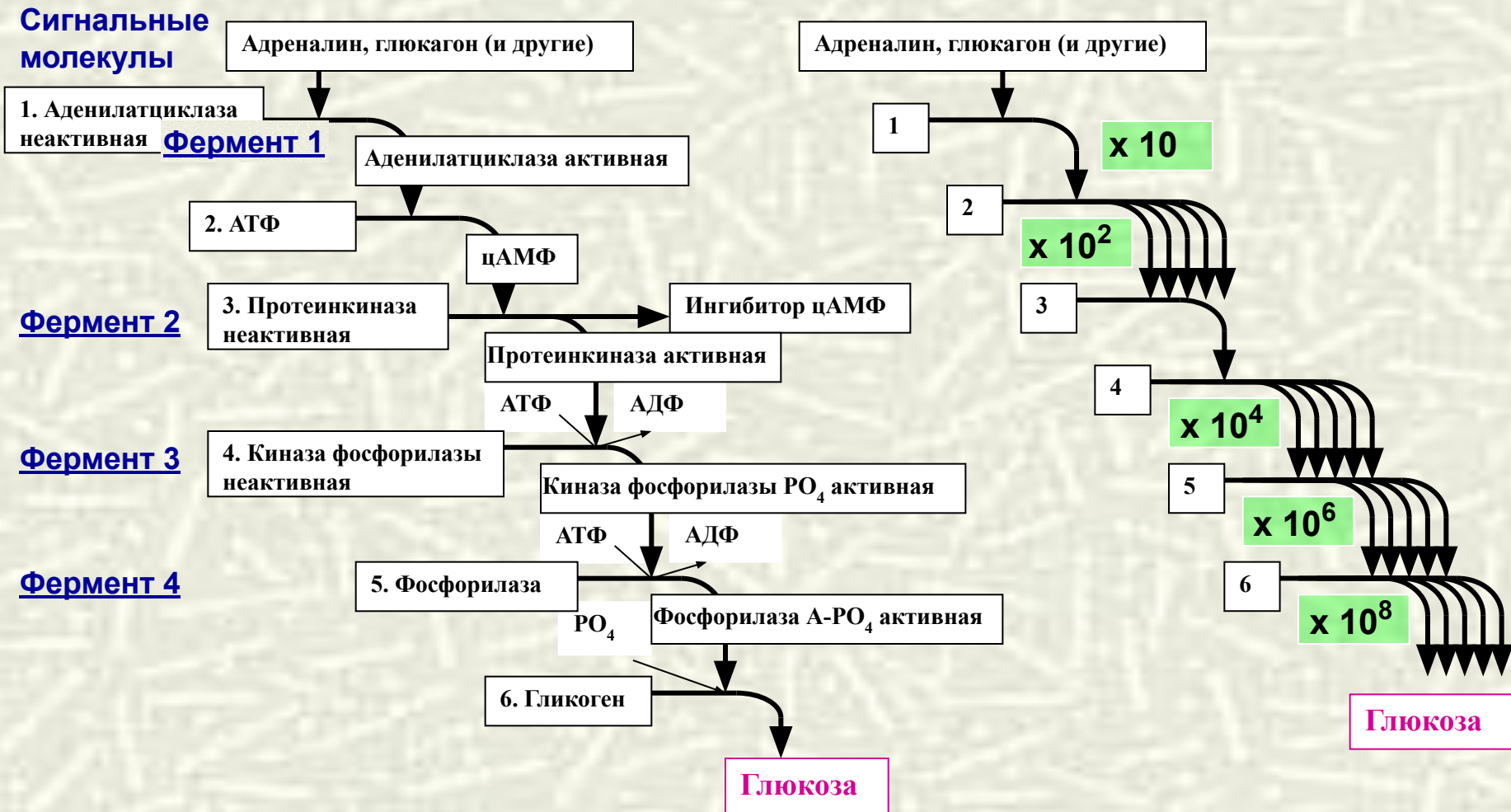
- Отличить сигнал от множества других
- Доставить его по назначению
- Адекватно отреагировать на получение сигнала
- Выключить системы реагирования сразу, как только сигнал исчезает из окружающей клетку среды.

Поступающий сигнал слаб и клетка должна его усилить, чтобы он смог быть воспринят внутри клетки внутриклеточными приемниками. Эту проблему клетка решает тем, что использует **КАСКАДНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УСИЛЕНИЯ СИГНАЛА**.

Активация рецептора вызывает каскад событий в клетке, в результате которых клетка адекватно реагирует на внешний сигнал.

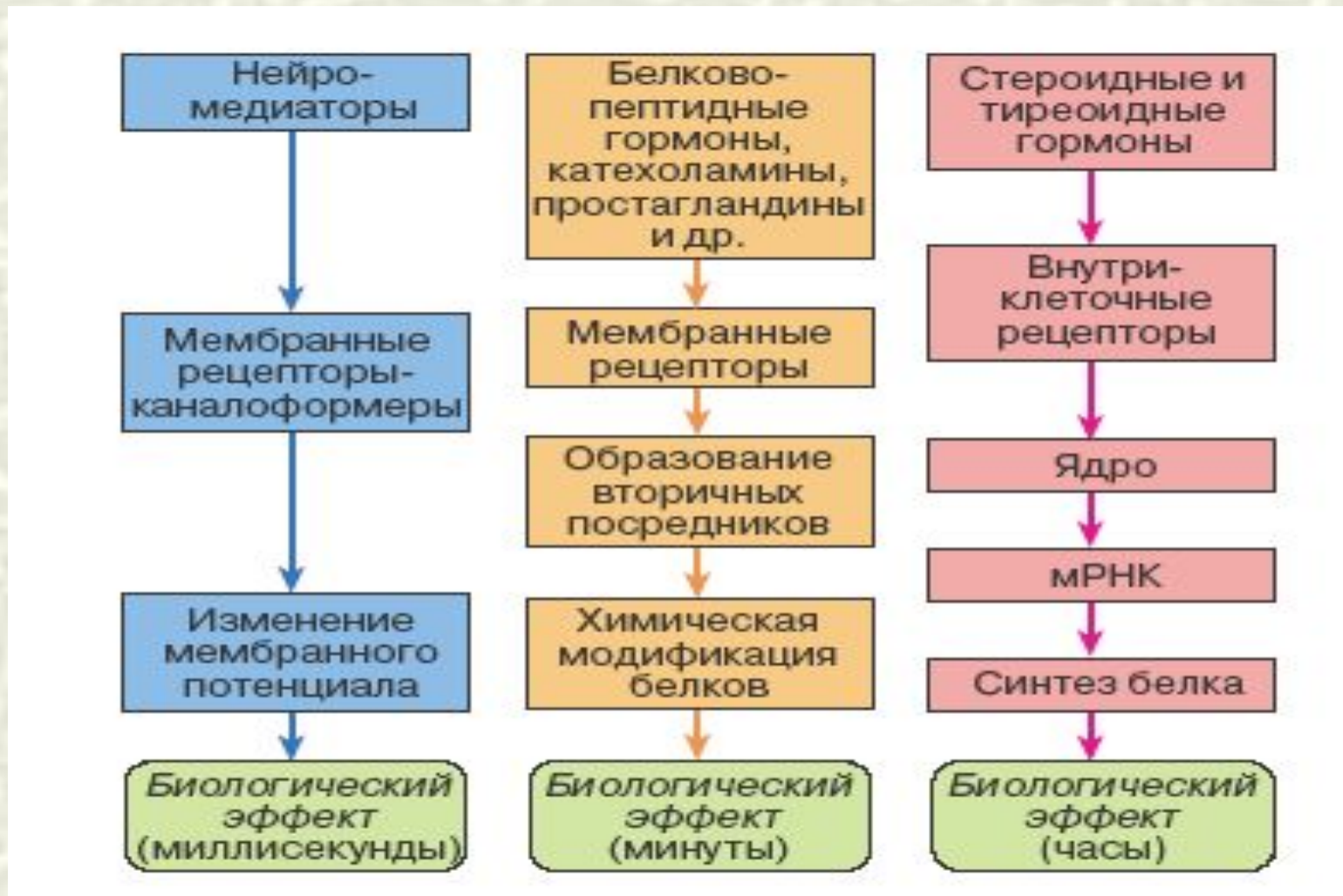
Воспринимающий первичный сигнал рецептор инициирует образование в клетке промежуточных химических соединений, запускающих внутриклеточные процессы, воздействие на которые было целью первичного внеклеточного сигнала.

Каскадная регуляция сигнала



Сопряжение поверхностных рецепторов с активацией аденилатциклазы через G-белок позволяет не только преобразовывать внеклеточный сигнал во внутриклеточный, но и многократно его усиливать.

Три основных механизма нейроэндокринной регуляции клеток

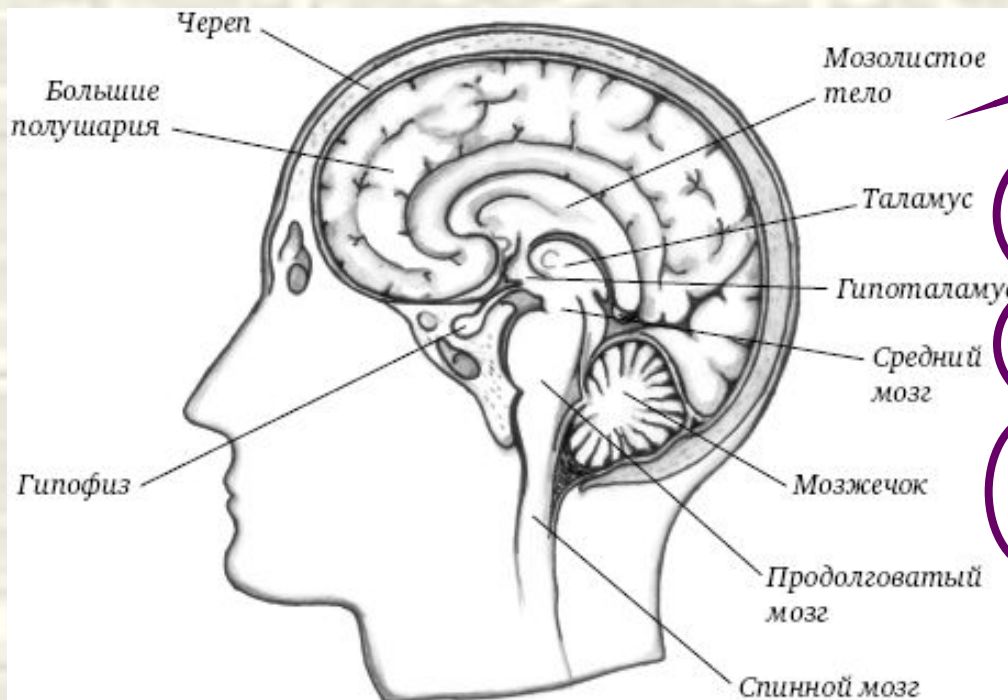


Гормоны и нейромедиаторы сообщают органам и тканям что, когда и сколько они должны производить

Кто контролирует в организме?



МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОЭНДОКРИННОЙ РЕГУЛЯЦИИ



КОРА БОЛЬШОГО МОЗГА

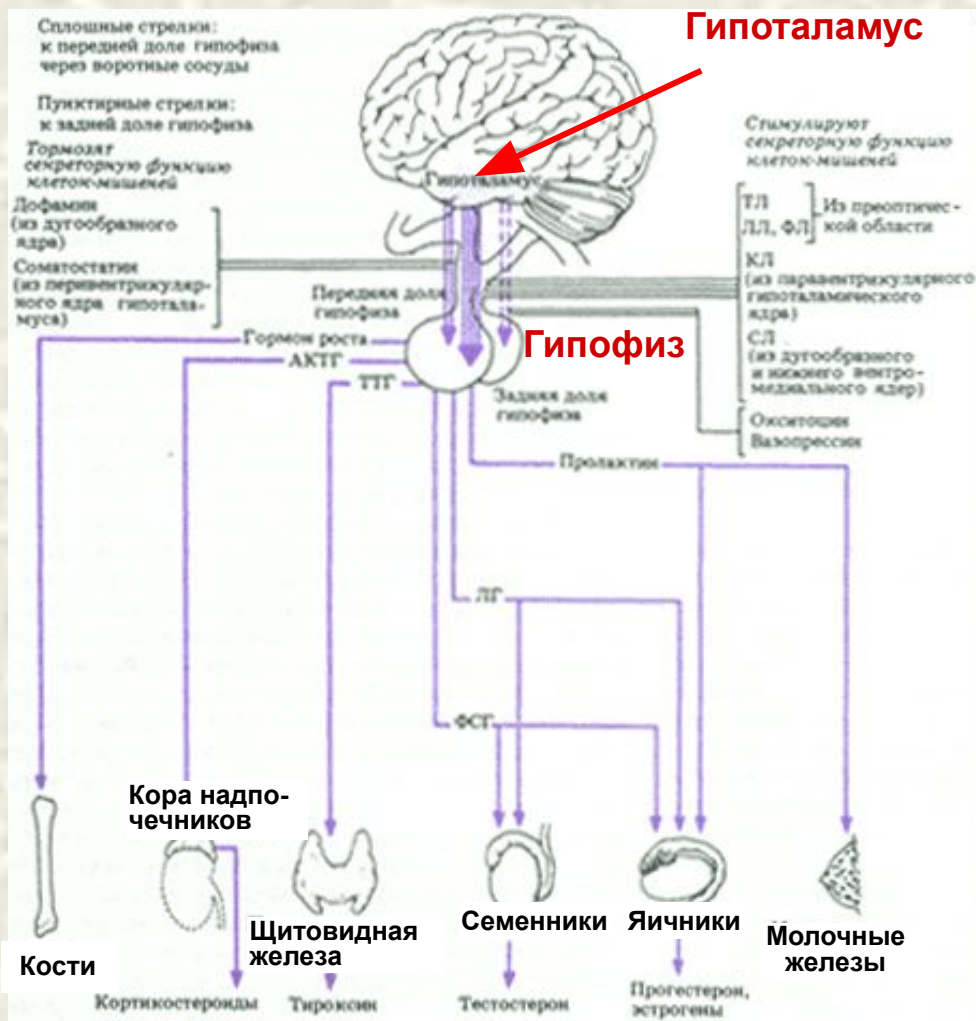
ГИПОТАЛАМУС

Г И П О Ф И З

“ПЕРИФЕРИЧЕСКИЕ”
ЭНДОКРИННЫЕ ЖЕЛЕЗЫ

КЛЕТКИ -МИШЕНИ

Первым звеном в гипоталамическом контроле над эндокринной системой служит **передача гормональных посредников через воротную систему гипофиза**. Те же гипоталамические нейроны могут образовывать в мозгу и **другие связи - синаптические**. В этом случае их секреторные продукты выступают в роли **нейромедиаторов**.



Специфические группы клеток передней доли гипофиза с помощью гормонов управляют определенными эндокринными органами, расположенными в разных областях тела. Каждая из этих групп гипофизарных клеток находится под контролем стимулирующих или тормозящих факторов, выделяемых нейронами гипоталамуса в систему воротного кровообращения гипофиза.

АКТГ - адренокортикотропный гормон (кортикотропин);
 КЛ - кортиколиберин;
 ЛГ - лютеинизирующий гормон;
 ЛЛ - люлиберин
 СЛ - соматолиберин;
 ТЛ - тиреолиберин;
 ТТГ - тиреотропный гормон
 ФЛ - фоллиберин;
 ФСГ - фолликулостимулирующий гормон.

Сигналы, передающиеся через **сигнальные молекулы**, являются **первичными** по отношению к каскадам биохимических реакций, запускающимся в клетках в ответ на их воздействие.

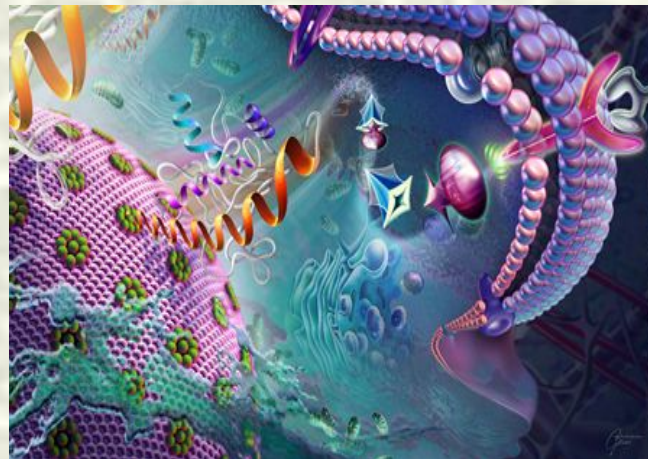
Первичный сигнал, как правило, не действует прямо на те метаболические процессы в клетке, для регуляции которых он предназначен. Воспринимающий его рецептор инициирует образование в клетке **промежуточных химических соединений**, запускающих внутриклеточные процессы, воздействие на которые было целью первичного внеклеточного сигнала.

Передача сигнала – это последовательность реакций, включающих взаимодействие внеклеточных лигандов (сигналы клеточные) с **рецепторами** на поверхности клетки с последующей **активацией рецептора**, заключающейся в изменении состояния его внутриклеточного домена.

Активация рецептора вызывает каскад событий в клетке, в результате которых клетка *адекватно реагирует на внешний сигнал*.

Клеточный рецептор — молекула (обычно белок) на поверхности клетки, клеточной органеллы или в цитоплазме клетки, специфически реагирующая изменением своей пространственной конфигурации на присоединение к ней молекулы определенного химического вещества, обычно гормона или нейромедиатора — то есть на гормональный сигнал, и передающая этот сигнал внутрь клетки или клеточной органеллы, обычно при помощи механизма вторичных посредников или с помощью трансмембранных ионных токов.

Химическое вещество, специфически соединяющееся с рецептором, называется **лигандом** этого рецептора.



Классификация рецепторов

По локализации:

Мембранные
Цитоплазматические
Ядерные

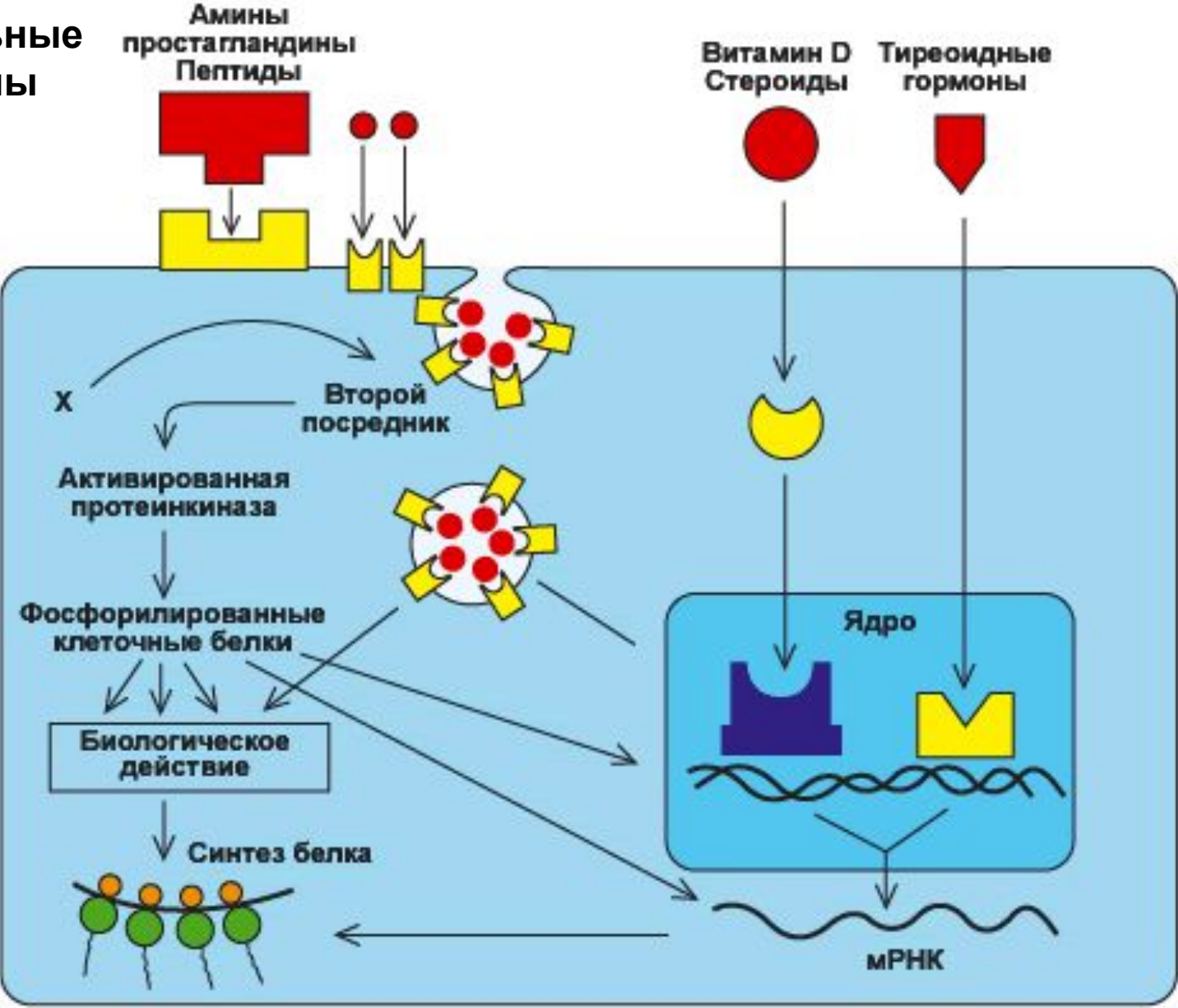
По времени ответа:

Быстроотвечающие (миллисекунды)
Медленноотвечающие (минуты, часы)

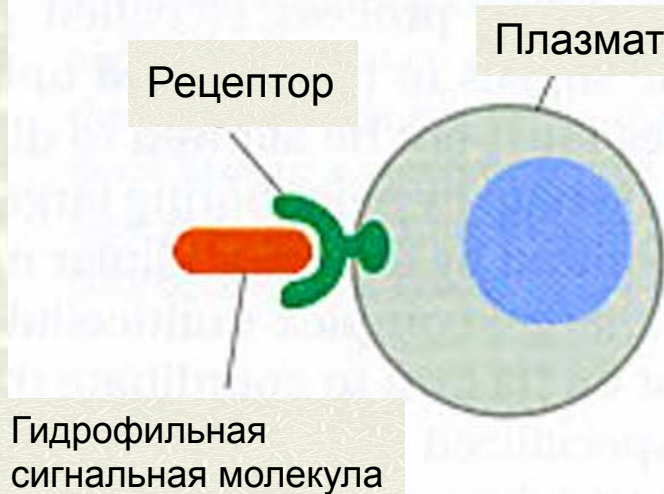
По способу передачи сигнала:

Ионотропные - образующие ионный канал
(быстрые)
Каталитические рецепторы
Ассоциированные с G-белками.

Сигнальные молекулы

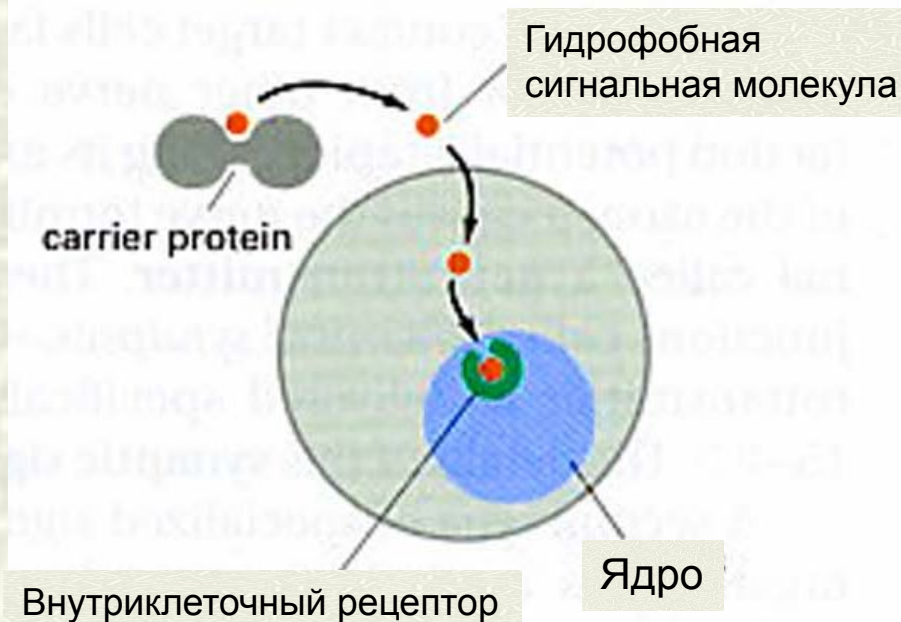


МЕМБРАННЫЙ РЕЦЕПТОР



Внеклеточные сигнальные молекулы в зависимости от своей растворимости связываются с поверхностными или внутриклеточными рецепторами. **Гидрофильные молекулы** не способны прямо проходить через плазматическую мембрану, поэтому они связываются с рецепторами на поверхности клетки-мишени.

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ РЕЦЕПТОР



Гидрофобные лиганды (например, стероидные гормоны) проникают в клетку путем диффузии. Внутри клеток такие соединения специфически взаимодействуют с белковыми рецепторами, образуя комплекс переносится в ядро. Будучи нерастворимы в водных средах, гидрофобные сигнальные молекулы транспортируются кровью в виде комплексов со специальными белками-переносчиками, от которых они отделяются, перед тем как проникнуть в клетку-мишень.

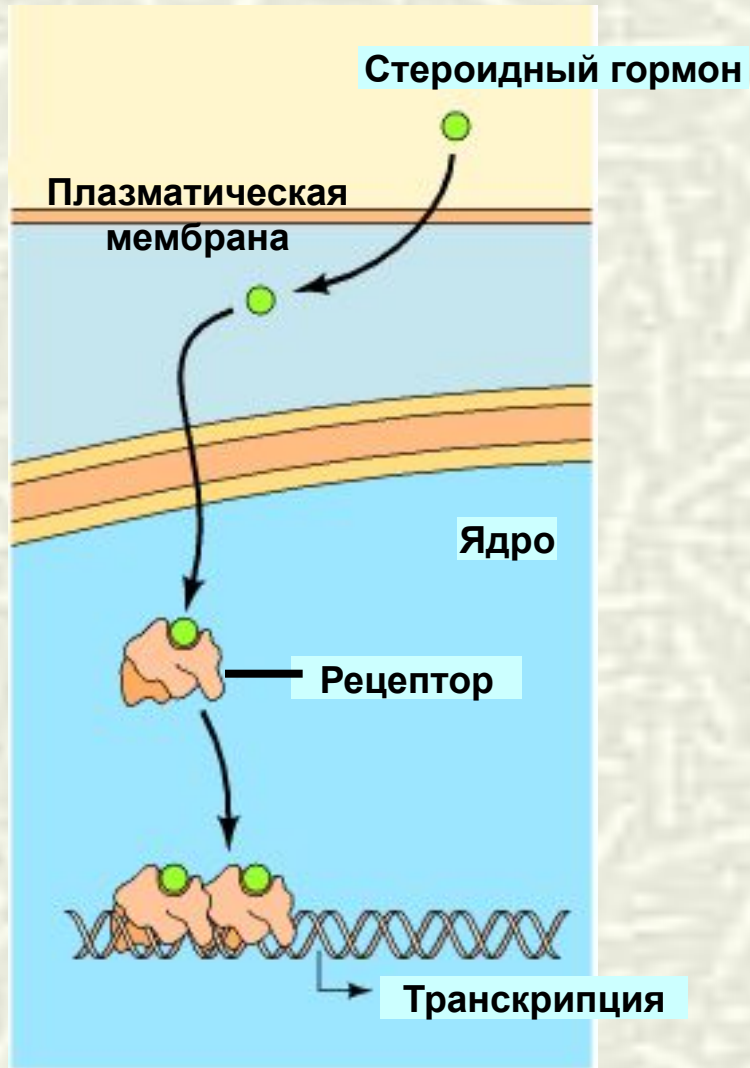
Внутриклеточные рецепторы для одних гормонов, например глюкокортикоидов, локализованы в цитоплазме, для других, таких как андрогены, эстрогены, тиреоидные гормоны, расположены в ядре клетки.

Распределение рецепторов между ядром и цитоплазмой представляет собой *равновесный* процесс с сильным сдвигом равновесия в сторону ядерной фракции.

Прочность связывания рецепторов с ядерными структурами увеличивается в присутствии гормона-лиганда в результате образования гормон-рецепторных комплексов.

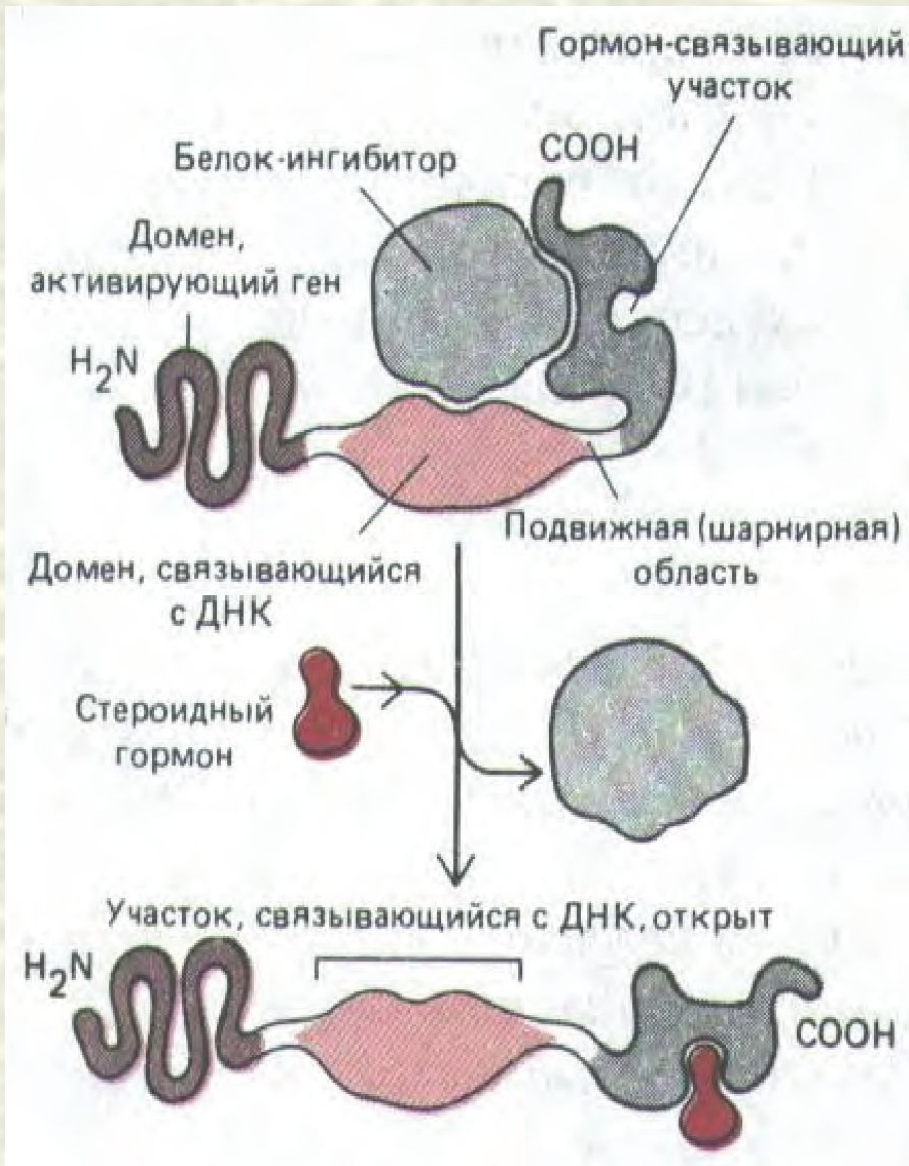
Рецепторы стероидных гормонов

(Кортизол, Гидрокортизон, Преднизолон, Альдостерон, Тестостерон, Эстрадиол и др.)



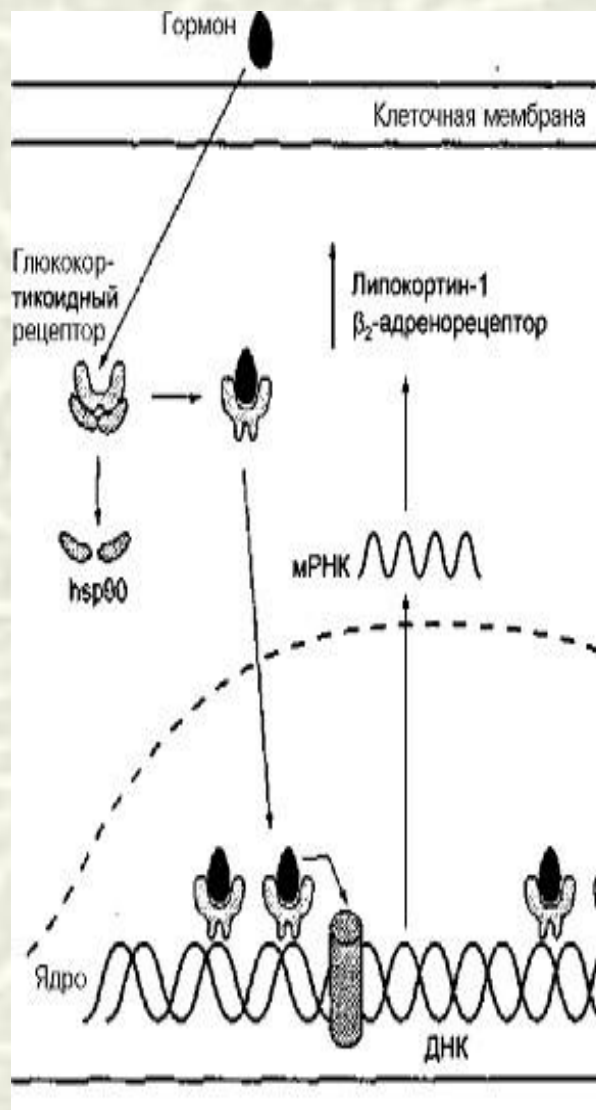
Стероидные гормоны являются веществами гидрофобного характера. Они легко преодолевают фосфолипидный барьер мембран и попадают в ядро клетки, где связываются с растворимыми ядерными рецепторами. Образующийся комплекс гормон-рецептор взаимодействует с хроматином и стимулирует или репрессирует транскрипцию определенных генов. Таким образом, эти гормоны регулируют метаболические процессы, изменяя скорость биосинтеза ключевых белков

Модель белка-рецептора для стероидного гормона.



В неактивном состоянии рецептор связан с ингибиторным белком, который блокирует ДНК-связывающий домен рецептора. Связывание гормона рецептором приводит к отделению белка-ингибитора, и в результате рецептор активируется. Протообразом для этой модели послужил рецептор кортизола (глюкокортикоида), но сходную структуру имеют также рецепторы для эстрогенов, тестостерона, прогестерона, альдостерона, тиреоидного гормона, ретиноевой кислоты и витамина D; вместе все эти белки образуют надсемейство рецепторов стероидных гормонов.

Глюкокортикоидный рецептор



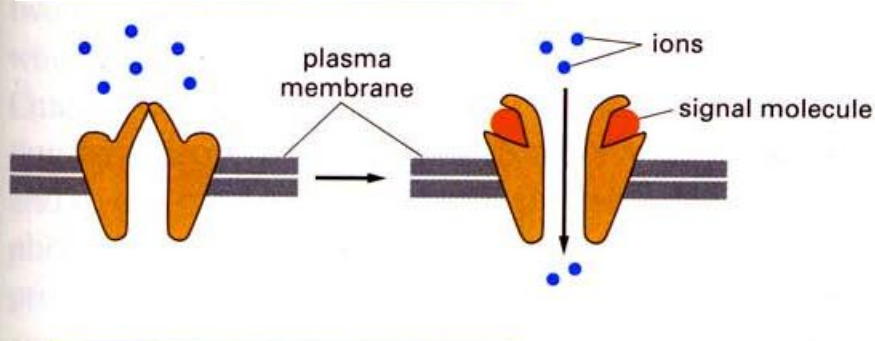
Неактивированный глюкокортикоидный рецептор (не связанный с гормоном) входит в состав белкового комплекса, который состоит из молекулы белка теплового шока молекулярной массой 90 кДа (Hsp90), белка под названием иммунофиллин и нескольких белков, обладающих ингибиторным влиянием на глюкокортикоидный рецептор. Молекула Hsp90 действует как молекулярный шаперон* — не позволяет рецептору проникнуть в ядро клетки, не связавшись прежде с гормоном. При связывании гормона с рецептором происходит диссоциация молекулы Hsp90, после чего активированный комплекс рецептор-гормон может проникнуть в ядро и связаться с ДНК. Комплекс гормон-рецептор может либо индуцировать гены, повышая продукцию соответствующих белков (например, липокортина-1; бета2-адренорецепторов); либо репрессировать продукцию других белков (например, цитокинов, индуцибельной NO-синтетазы, индуцибельной циклоксигеназы-2)

**шаперон – в старину пожилая дама или кавалер, сопровождающие и поддерживающие молодую девушку на светском балу*

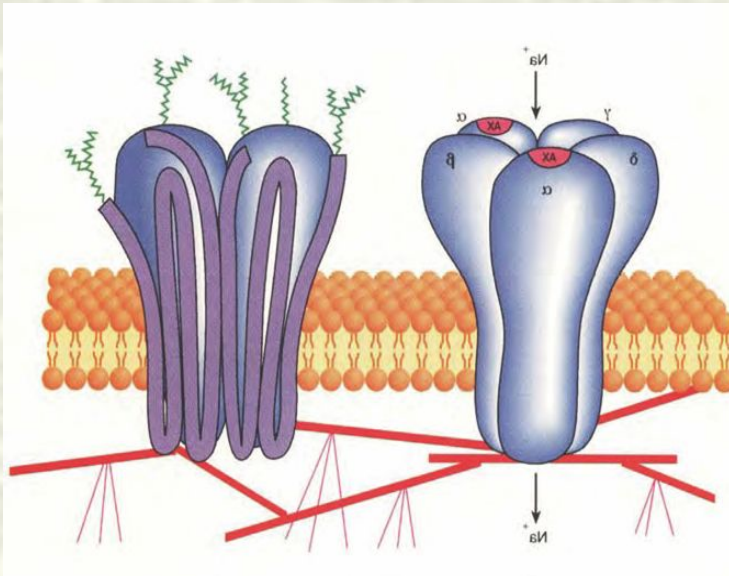
Общие свойства мембранных рецепторов

1. Гликозилированные белки
2. Трехдоменная структура
3. Мультирецепторный принцип действия
4. Инициация метаболических и транскрипционных эффектов (**доминирующие** и дополнительные пути проведения сигнала)

Ионотропные рецепторы



Ионотропные рецепторы представляют собой мембранные каналы, открываемые или закрываемые при связывании с лигандом. Возникающие при этом ионные токи вызывают изменения трансмембранной разности потенциалов и, вследствие этого, возбудимости клетки, а так же меняют внутриклеточные концентрации ионов, что может вторично приводить к активации систем внутриклеточных посредников.

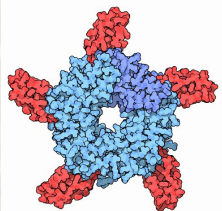
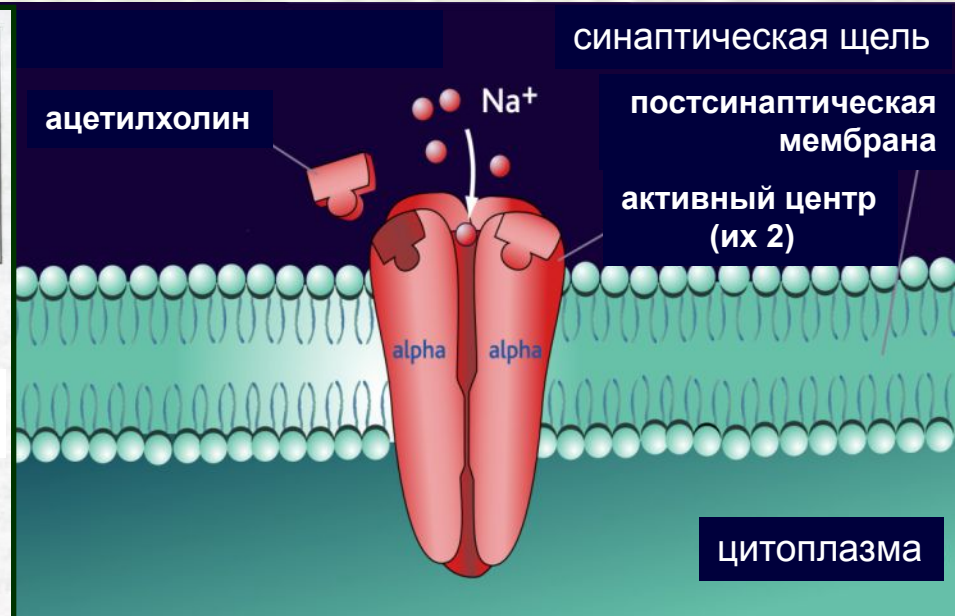
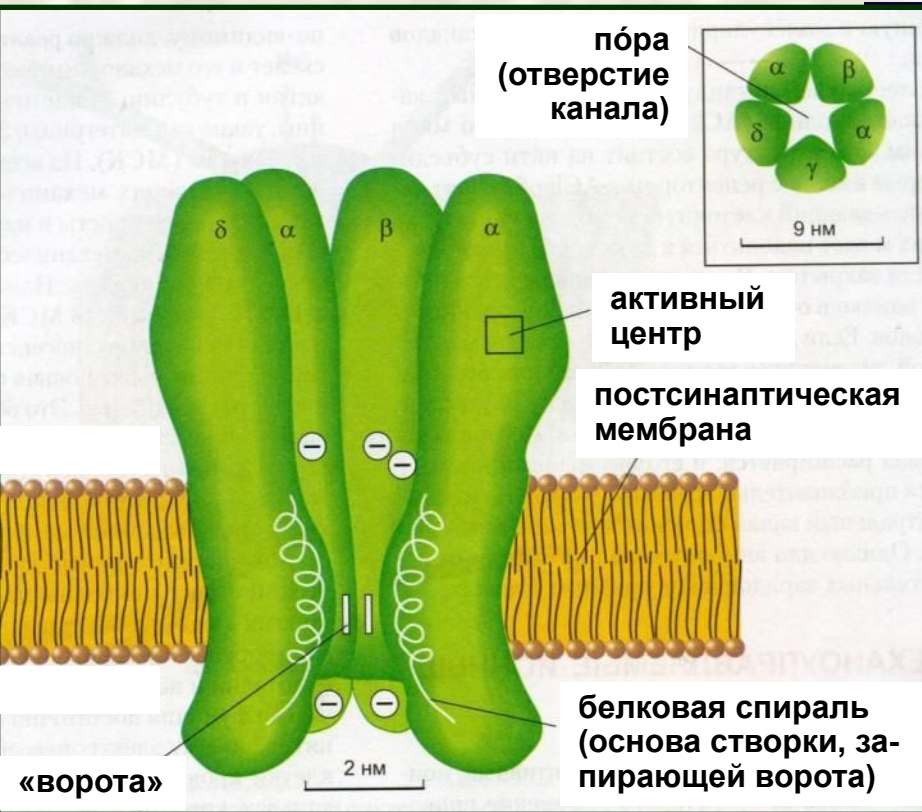


Структура холинергического рецептора никотинового типа, формирующего ионный канал. Субъединицы с внешней стороны гликозилированы, а внутри взаимодействуют с белками тубулинового и актинового цитоскелета. Связывание АХ с двумя α-субъединицами холинергического рецептора вызывает конформационные изменения в олигомерном комплексе, в результате чего Na^+ входит внутрь клетки.

Никотиновый рецептор:

- ионотропный («быстрый»)
- всегда генерирует ВПСП (вход Na^+)
- пример: нервно-мышечные синапсы

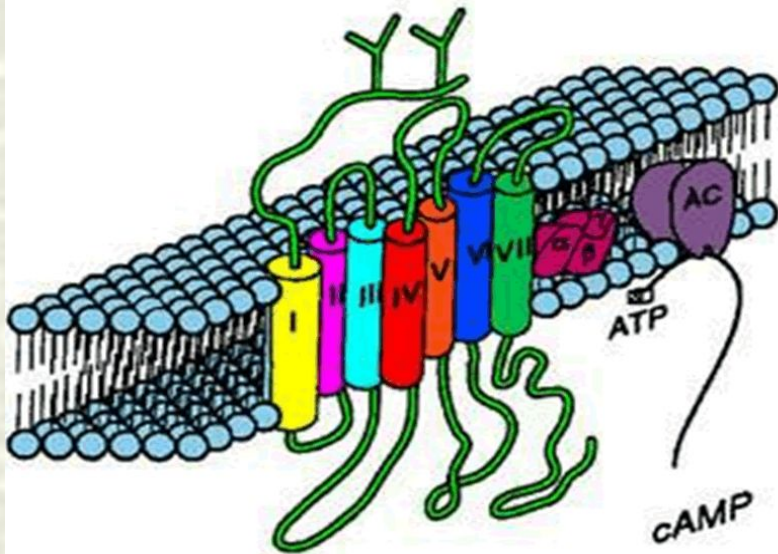
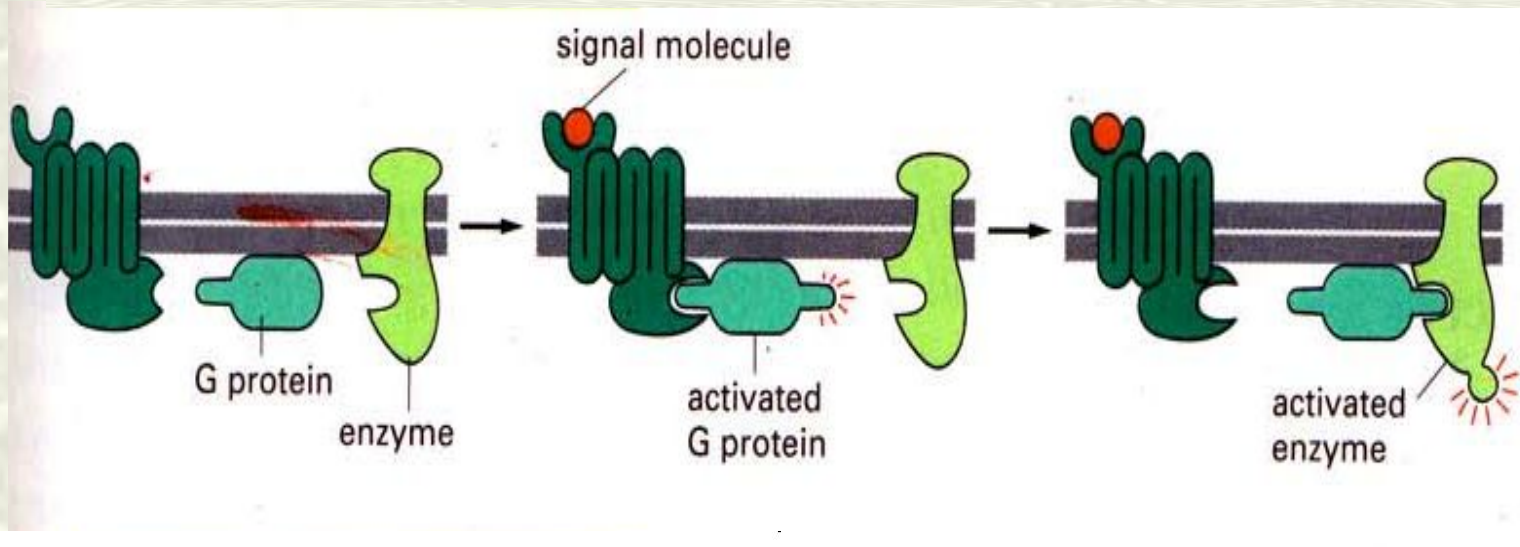
- состоит из 5 белковых молекул-субъединиц (чаще всего: $2\alpha + \beta + \gamma + \delta$; расположены по кругу и образуют пору).



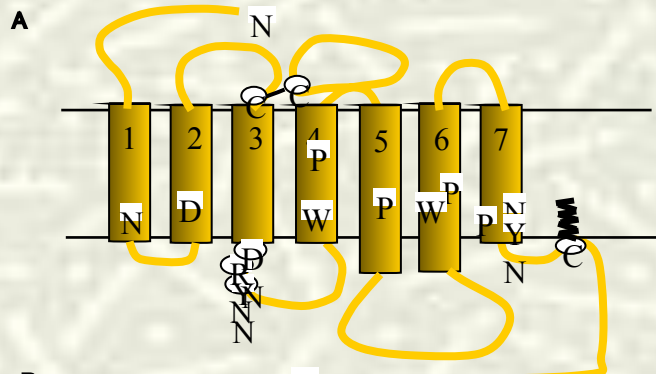
- антагонисты: курарин, альфа-нейротоксин яда кобры.

- пропускает, кроме Na^+ , ионы K^+ и, гораздо слабее, Ca^{2+} (в реальных условиях доминирует вход Na^+); ионы Cl^- отталкиваются отрицат. зарядами на стенках поры.

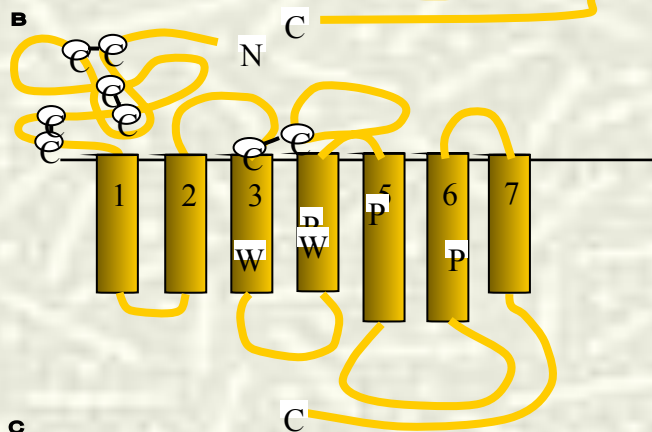
Рецепторы, ассоциированные с G-белками.



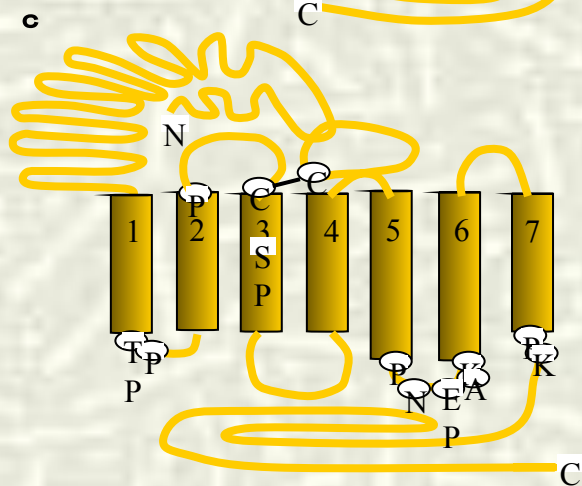
Рецепторы, ассоциированные на внутренней поверхности мембраны с GTP-связывающими белками, (G-белки) представляют собой трансмембранные белки, имеющие 7 трансмембранных доменов, внеклеточный N-конец и внутриклеточный C-конец. Сайт связывания с лигандом находится на внеклеточных петлях, домен связывания с G-белком — вблизи C-конца в цитоплазме.



Рецепторы биогенных аминов (адренергические, серотонина, дофамина, мускариновые, гистамина), холецистокинина, тахикинина, нейропептида Y, тиролиберина, нейротензина, бомбезина, соматолиберина, брадикинина аденозина, каннабиноида, меланокортина и обонятельные хемокинов, N-формил-метионил-лейцил-фенилаланина, компонента C5A, гонадолиберина, эйкозаноидов, лейкотриенов, ФСГ, ЛГ, ТТГ, галанина, нуклеотидов, опиоидов, окситоцина, вазопрессина, соматостатина, рецепторы, активируемые протеазами, мелатонина



Рецепторы кальцитонина, пептида, связанного с геном кальцитонина, кортиколиберина, паратгормона и пептида, родственного паратгормону, глюкагона, глюкагоноподобного пептида, гастроингибирующего пептида, гонадолиберина, пептида гипофиза, активирующего аденилатциклазу, вазоактивного интестинального пептида, секретина, латротоксина



Рецепторы глутамата
 Рецепторы гамма-аминомасляной кислоты
 Рецепторы кальция
 Вомероназальные рецепторы феромонов
 Вкусовые рецепторы

Различные лиганды и лиганд-связывающие участки серпентиновых (7ТМ) рецепторов.

Рецепторы 7ТМ типа регулируют различные эффекторные молекулы и отвечают на лиганды, имеющие различные молекулярные массы в широком диапазоне от 32 для Ca^{2+} до более чем 100 кД для гликопротеинов.

(a) amines, nucleotides,
eicosanoids, ets.



(b) peptides hormones



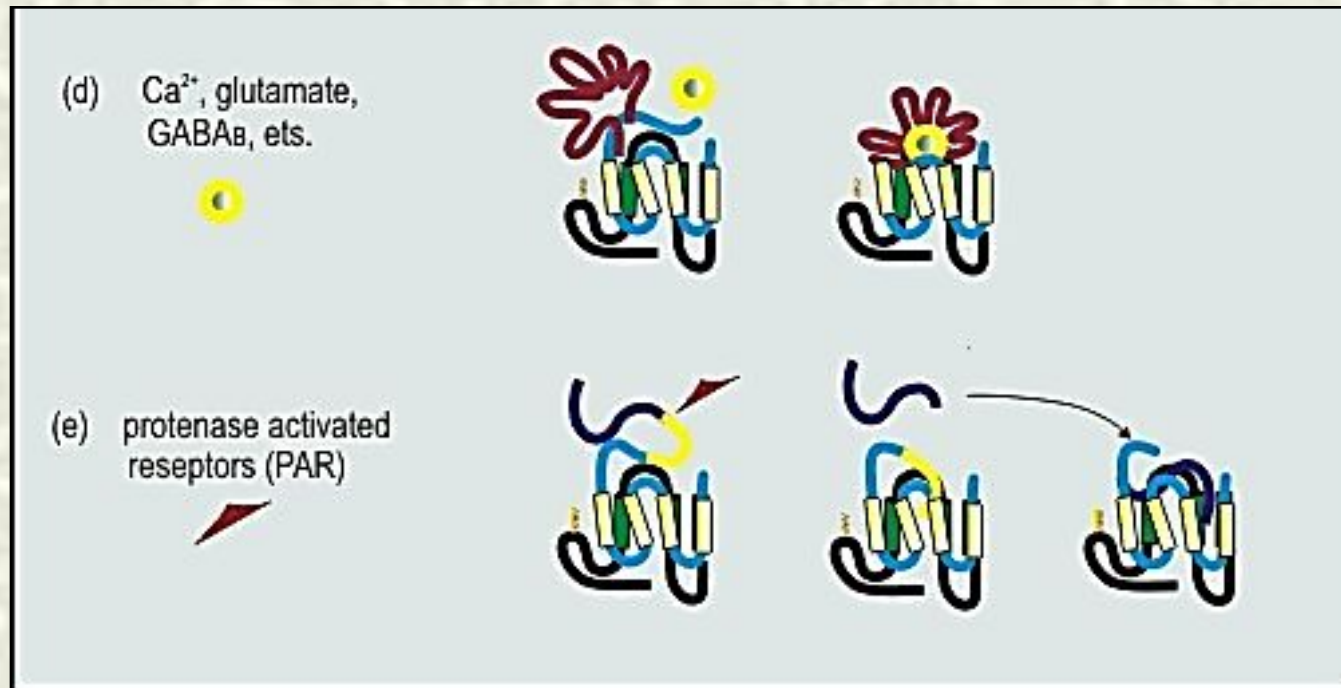
(c) glucoprotein hormones,
(TSH, LH, FSH, ets)



(a) Большинство низкомолекулярных лигандов (адреналин, ацетилхолин) связывается с участками внутри гидрофобного ядра

(b, c) Пептидные и белковые лиганды присоединяются к внешней поверхности рецептора.

Различные лиганды и лиганд-связывающие участки серпентиновых рецепторов.



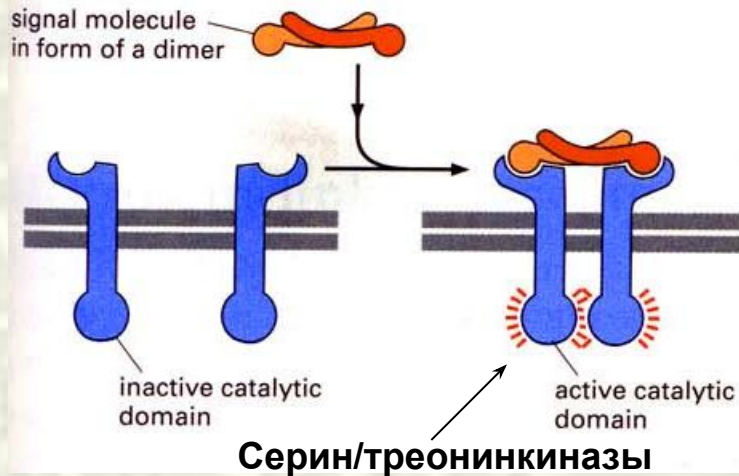
(d) Некоторые лиганды низкого молекулярного веса, Ca^{2+} и аминокислоты (глутамат, ГАМК) связываются с длинными участками на N-конце, индуцируя их переход в новую конформацию, в которой длинный участок взаимодействует с рецептором

(e) В случае рецепторов, активируемых отрезающей протеазой, новый N-конец действует как аутолиганд. Отрезанный пептид может также взаимодействовать с другим рецептором.

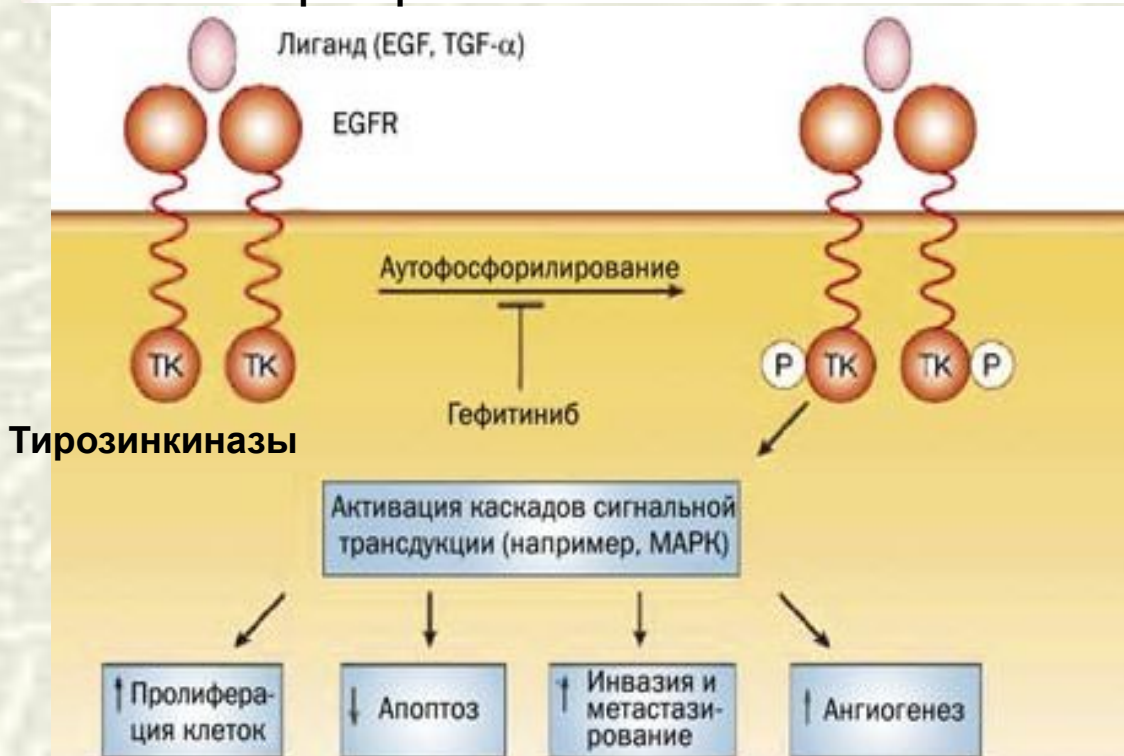
“Вы живете благодаря рецепторам, сопряженным с G-белком (GPCR). Вы можете видеть меня благодаря родопсину в глазах, вы можете чувствовать запахи благодаря обонятельным рецепторам, ваше сердце бьется потому, что адреналин действует на GPCR, работа вашей иммунной системы во многом регулируется ими. В вашем теле 826 разных рецепторов, относящихся к этому семейству. Они контролируют и работу мозга, например, реагируют на такие нейромедиаторы, как серотонин и допамин. Заболевания центральной нервной системы, например шизофрения, могут развиваться из-за того, что изменяется взаимодействие химических веществ с рецепторами. “

Рэймонд Стивенс

Каталитические рецепторы

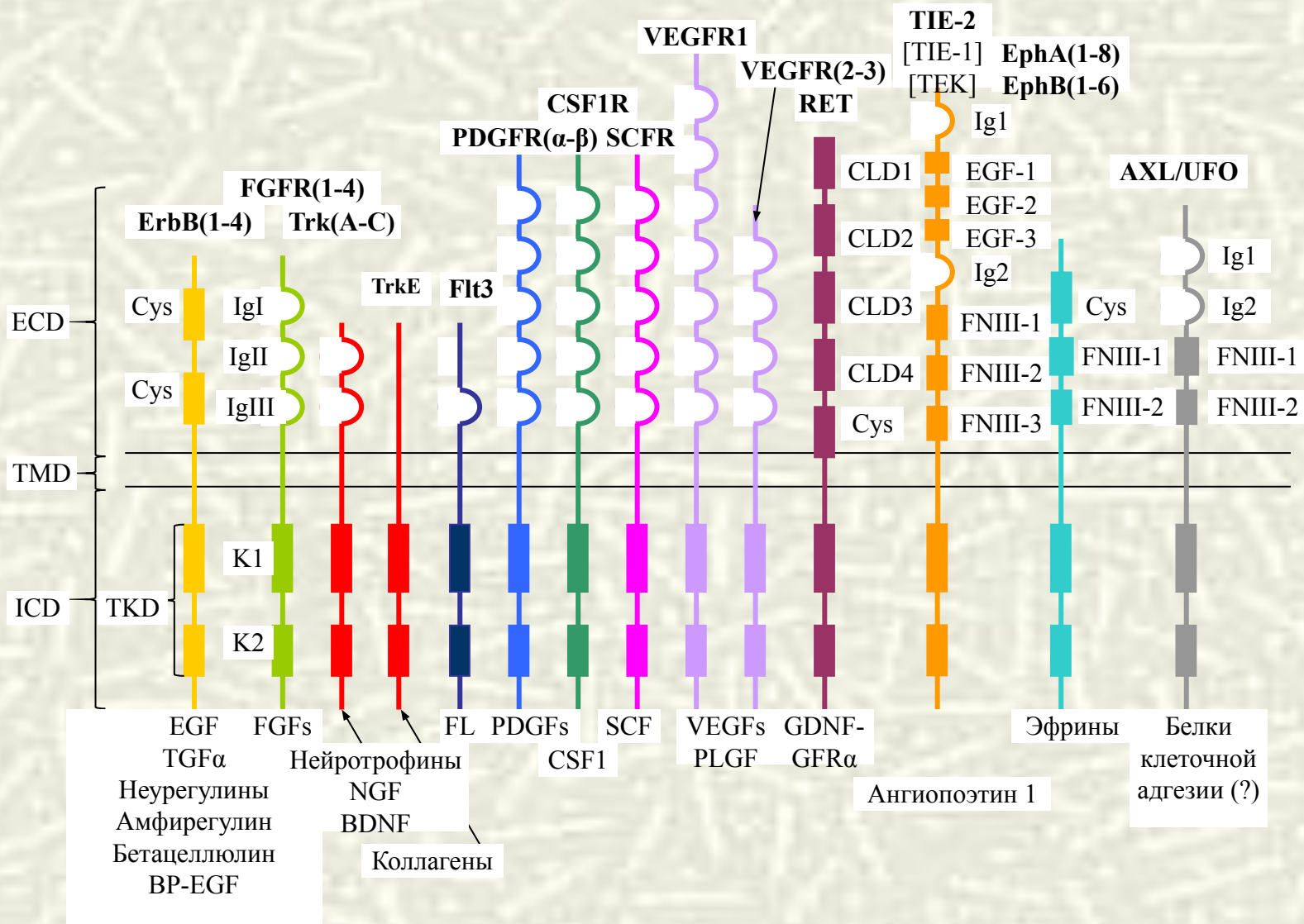


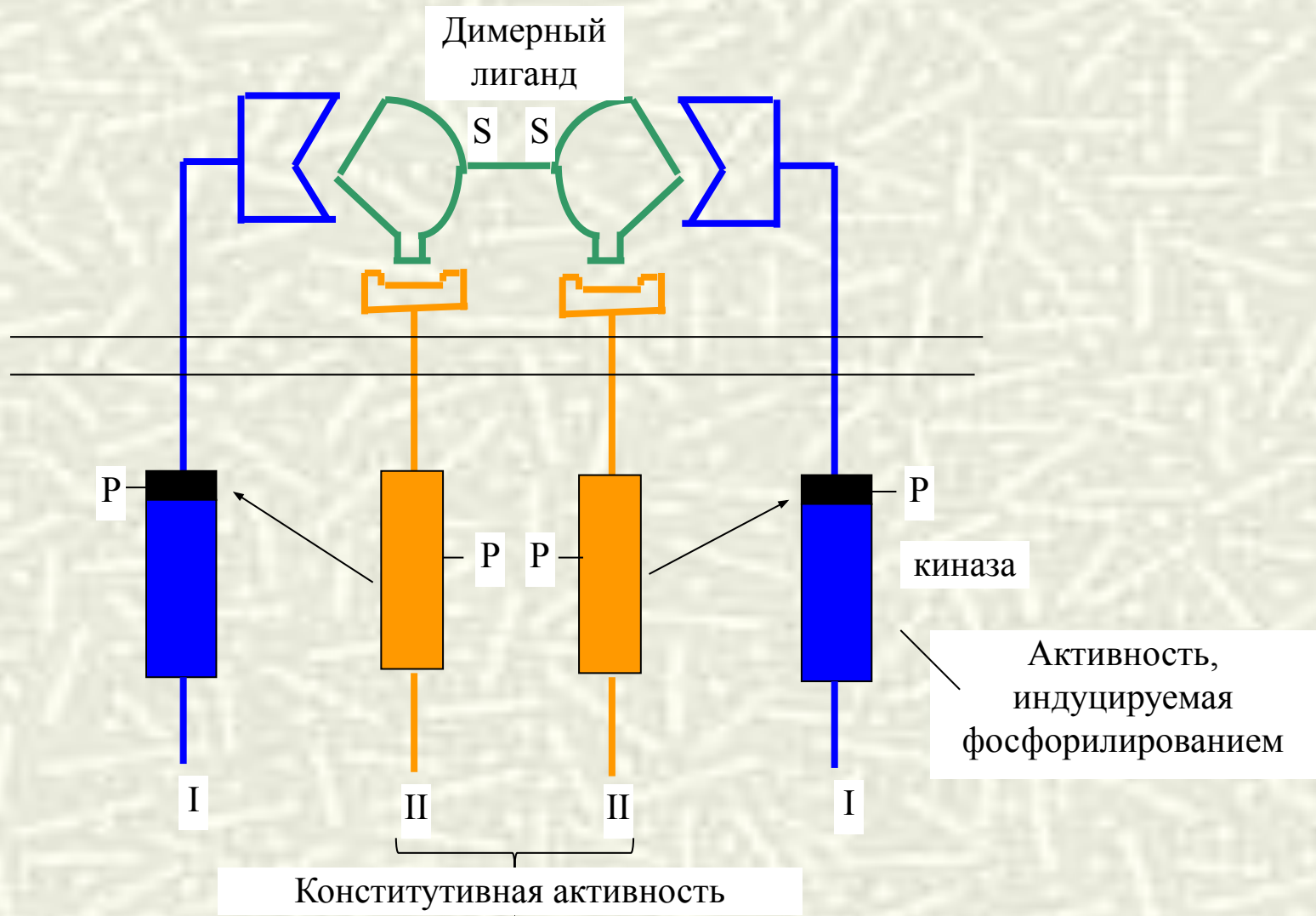
Взаимодействие с лигандом внешней части таких молекул сопровождается индукцией ферментативной активности, ассоциированной с внутриклеточной частью того же самого полипептида (рецепторы инсулина, эпидермального фактора роста, фактора роста тромбоцитов)



Лиганд связывается с экстраклеточной областью его рецептора. Это приводит к активации тирозинкиназного домена в цитоплазматическом конце рецептора. Активная тирозинкиназа фосфорилирует ряд цитоплазматических субстратных белков, которые в свою очередь активируются или изменяют свою функцию.

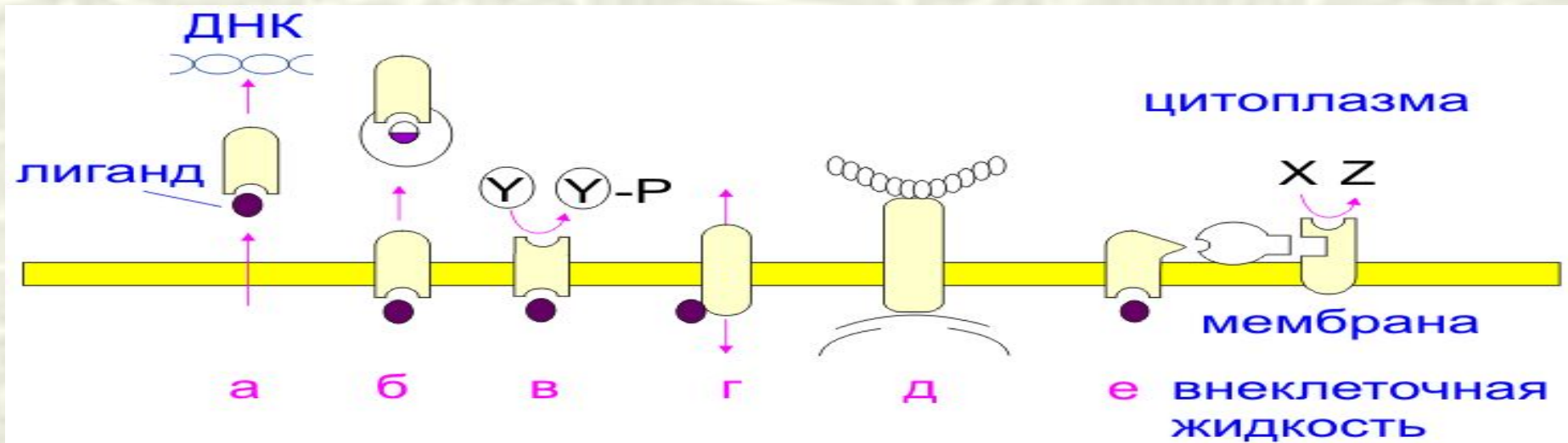
РЕЦЕПТОРНЫЕ ТИРОЗИНКИНАЗЫ





Организация рецепторных серин/треонинкиназ

Способы передачи внеклеточных регуляторных сигналов

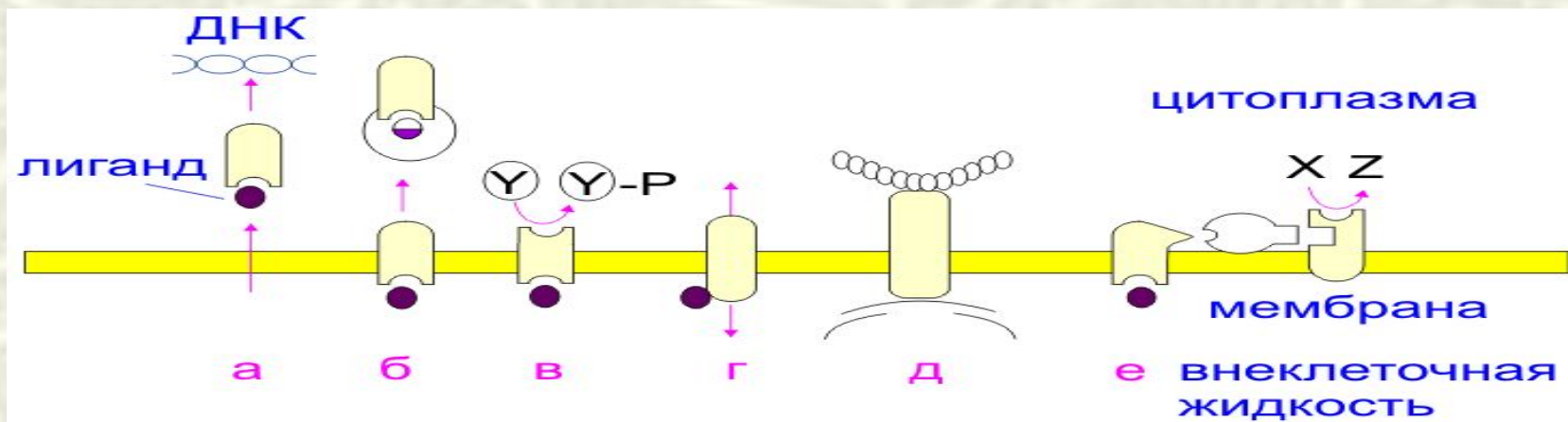


а) Гидрофобные лиганды (например, стероидные гормоны) проникают в клетку путем диффузии. Внутри клеток такие соединения специфически взаимодействуют с белковыми рецепторами, а образующийся комплекс переносится в ядро

б) Рецепторы мембран, ориентированные во внеклеточное пространство, осуществляют транспорт лиганда-регулятора внутрь клеток. Такой механизм используется для переноса молекул холестерина, ассоциированных с рецепторами липопротеинов низкой плотности

в) Каталитические рецепторы. Взаимодействие с лигандом внешней части таких молекул сопровождается индукцией ферментативной активности, ассоциированной с внутриклеточной частью того же самого полипептида (рецепторы инсулина, эпидермального фактора роста, фактора роста тромбоцитов)

Способы передачи внеклеточных регуляторных сигналов

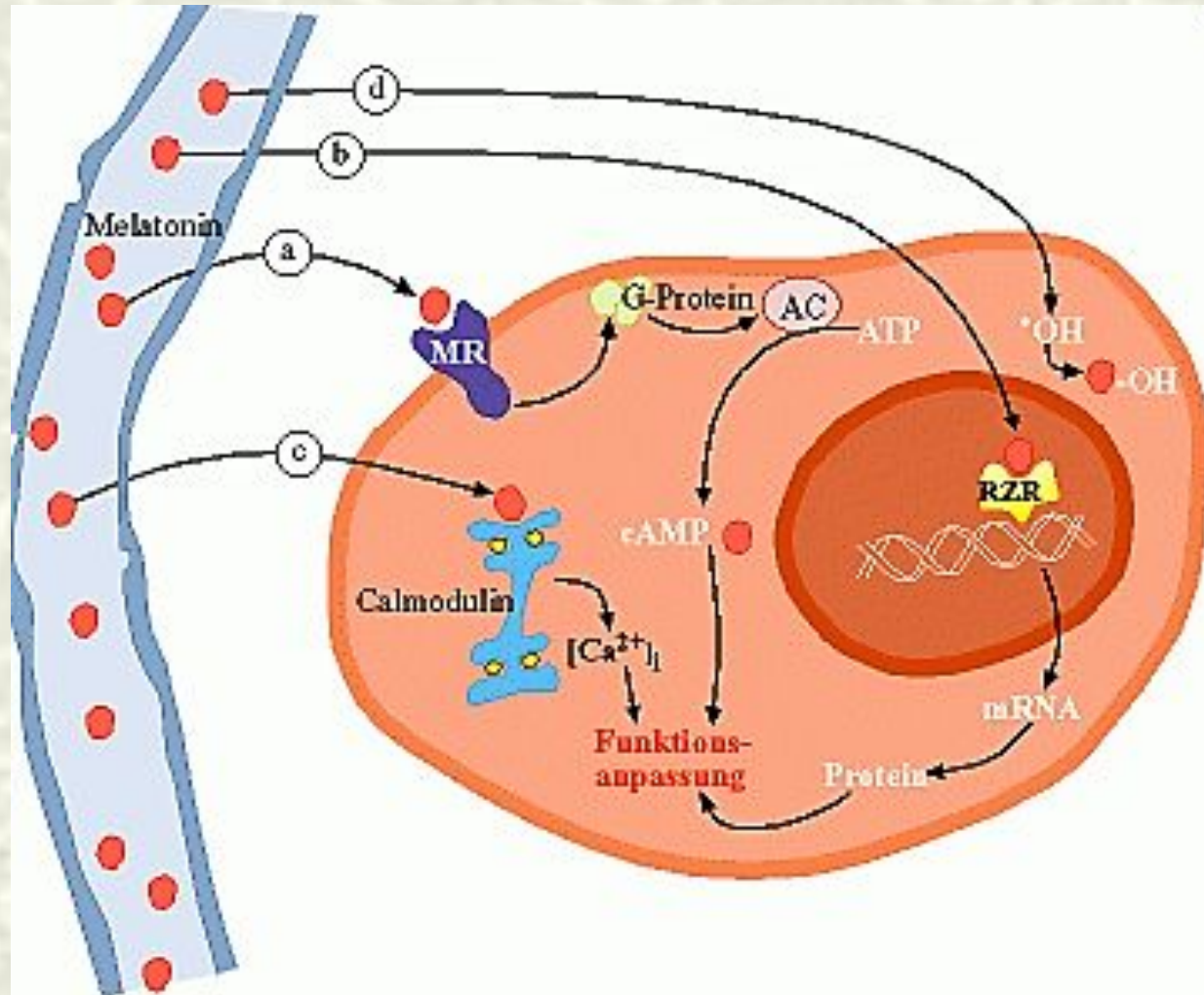


г) Ионотропные рецепторы представляют собой мембранные каналы, открываемые или закрываемые при связывании с лигандом. Возникающие при этом ионные токи вызывают изменения трансмембранной разности потенциалов и, вследствие этого, возбудимости клетки, а так же меняют внутриклеточные концентрации ионов, что может вторично приводить к активации систем внутриклеточных посредников.

д) Другие трансмембранные рецепторы осуществляют связь белков внеклеточного матрикса с микрофиламентами цитоскелета клеток и регуляцию формы клеток, зависящую от внеклеточного матрикса, их подвижности и роста

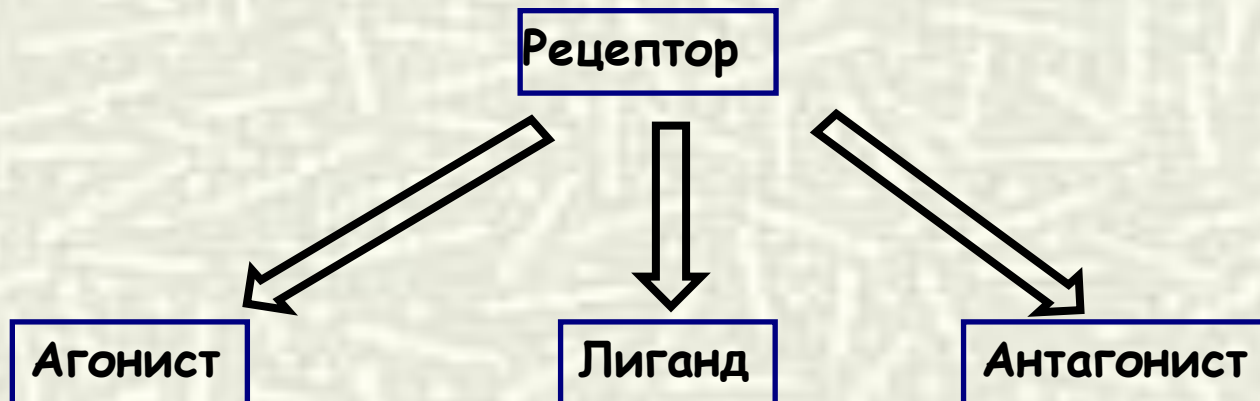
е) Рецепторы, ассоциированными на внутренней поверхности мембраны с GTP-связывающими белками, (G-белки) представляют собой трансмембранные белки, имеющие 7 трансмембранных доменов, внеклеточный N-конец и внутриклеточный C-конец. Сайт связывания с лигандом находится на внеклеточных петлях, домен связывания с G-белком — вблизи C-конца в цитоплазме.

Рецепторы мелатонина – мембранные, ядерные



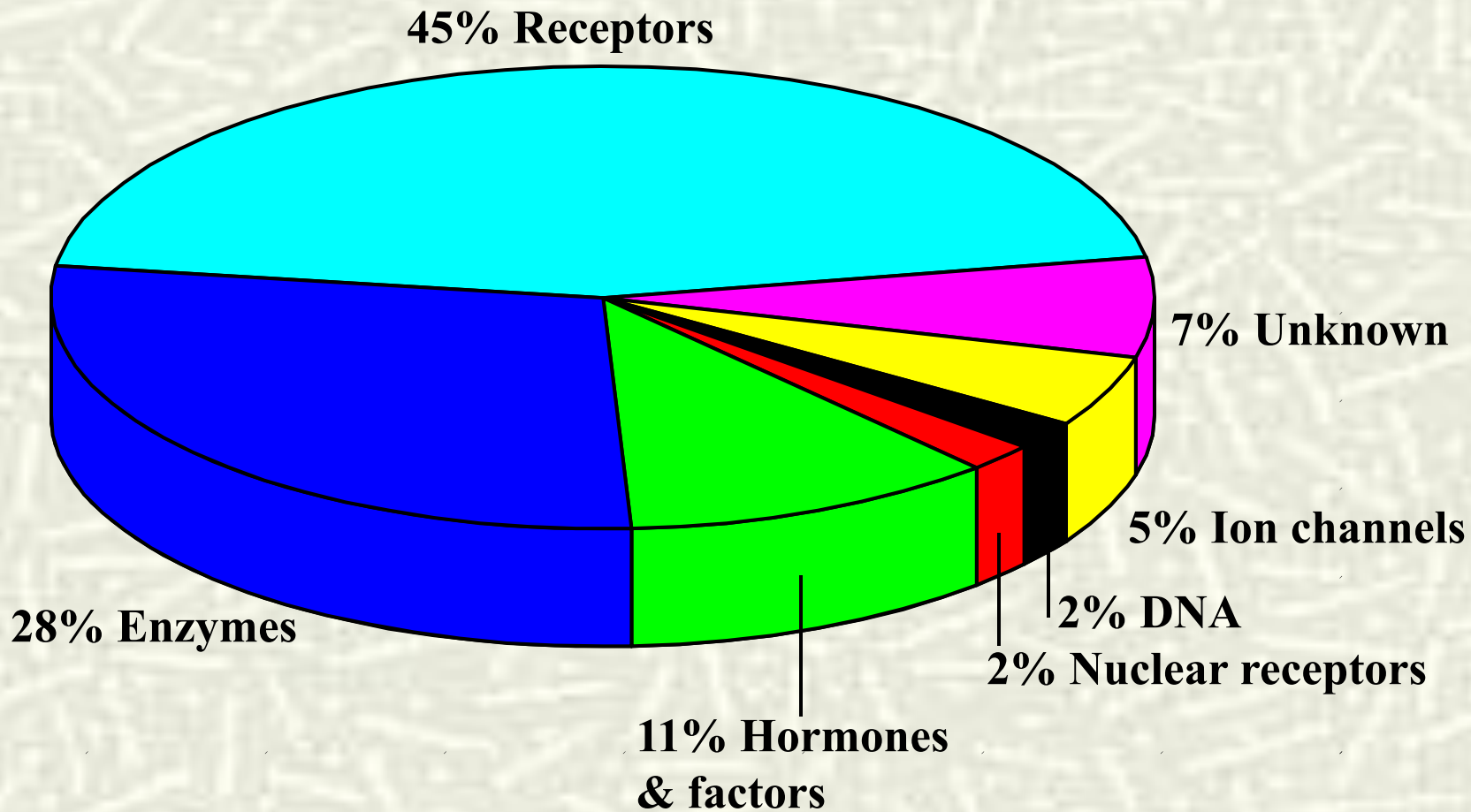
Основные признаки рецепторов.

1. Взаимодействие биорегулятора с рецептором должно отвечать требованиям определенной пространственной и структурной специфичности.
2. Количество связывающих мест должно быть ограниченным, и, следовательно, связывающие места должны быть насыщаемыми.
3. Связывание биорегулятора должно иметь тканевую специфичность, соответствующую его биологической специфичности.
4. Связывающие места должны обладать высоким сродством к лиганду, а их концентрация должна соответствовать физиологической концентрации лиганда.
5. Связывание биорегулятора с рецептором должно быть обратимым.



BIOCHEMICAL CLASSES OF DRUGS TARGETS OF CURRENT THERAPIES

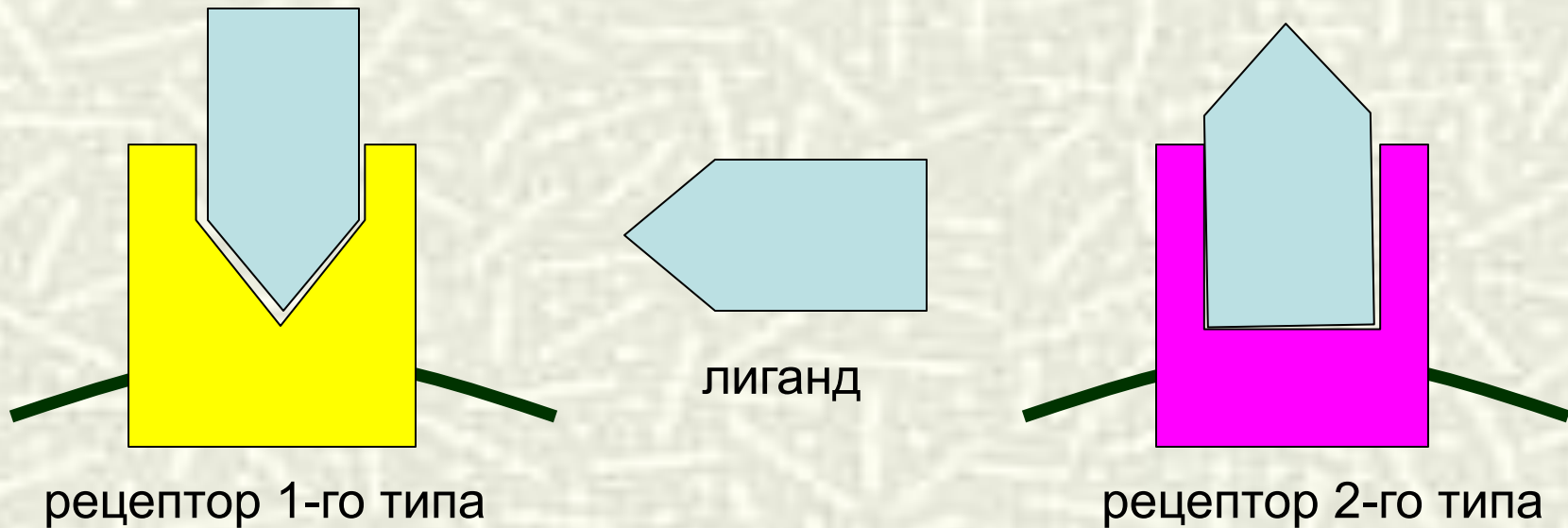
N=483



Вещество, со 100% вероятностью вызывающее при связывании с рецептором переход рецептора в конфигурацию «100% включено», называется полным **агонистом** рецептора. Вещество, со 100% вероятностью вызывающее при связывании с рецептором переход его в конфигурацию «100% выключено», называется полным **антагонистом** рецептора. Вещество, вызывающее переход рецептора в одну из промежуточных конфигураций либо вызывающее изменение состояния рецептора не со 100% вероятностью (то есть часть рецепторов при связывании с этим веществом включится или выключится, а часть — нет), называется **частичным агонистом** или **частичным антагонистом** рецептора, в зависимости от преобладания агонистической или антагонистической активности. Вещество, не меняющее состояния рецептора при связывании и лишь пассивно препятствующее связыванию с рецептором гормона или медиатора, называется **конкурентным антагонистом**, или **блокатором рецептора** (антагонизм основан не на выключении рецептора, а на блокаде связывания с рецептором его естественного лиганда).

Известны 2 типа рецепторов ацетилхолина: первый из них реагирует на Ацх и агонист **никотин** (токсин табака); второй реагирует на Ацх и агонист **мускарин** (токсин мухомора).

Как может один и тот же лиганд действовать на несколько типов рецепторов?
Как правило, это означает, что лиганд («ключ») разными частями своей молекулы соединяется с разными активными центрами рецепторов.



Но если активные центры рецепторов разные, то агонисты и антагонисты также будут различаться.

Классический антагонист Ацх-рецепторов первого типа («никотиновых»)

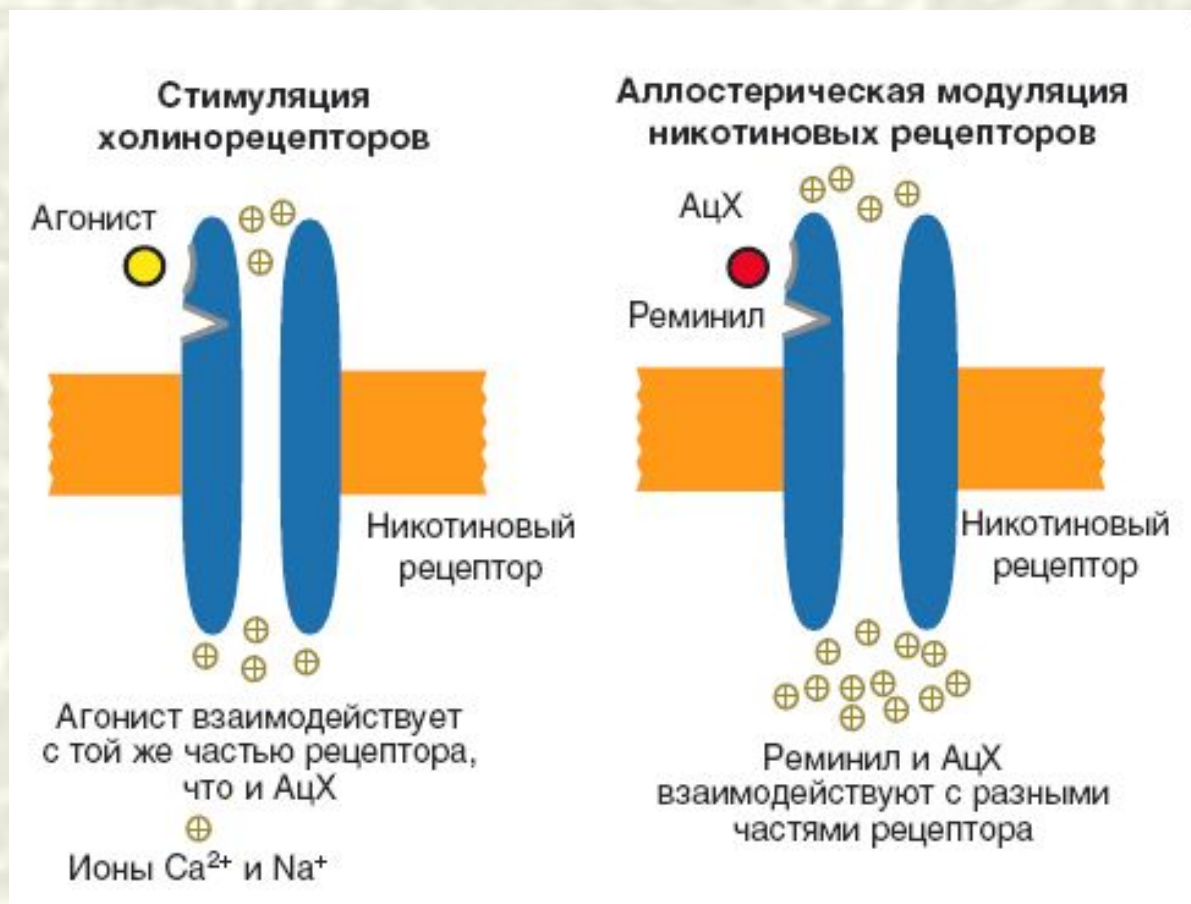
– **курарин**;

классический антагонист Ацх-рецепторов второго типа («мускариновых»)

– **атропин**

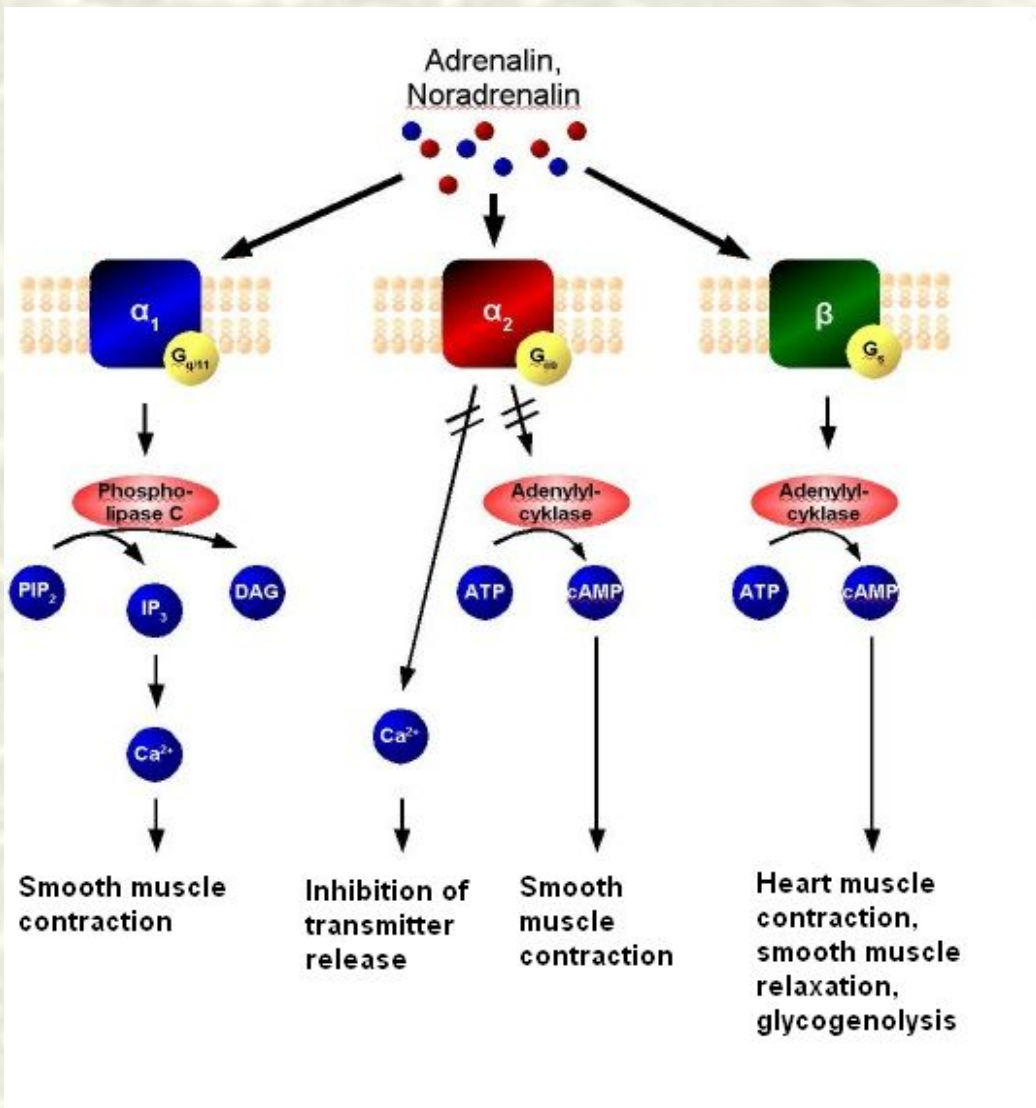
(курарин и атропин – Ацх-подобные растит. токсины).

Никотиновый рецептор. Агонисты – ацетилхолин, никотин



РЕМИНИЛ - антихолинэстеразный препарат обратимого действия. Облегчает проведение нервных импульсов в области нервно-мышечных синапсов; усиливает процессы возбуждения в рефлекторных зонах спинного и головного мозга. Повышает тонус и стимулирует сокращение гладкой и скелетной мускулатуры, секрецию пищеварительных и потовых желез, восстанавливает нервно-мышечную проводимость.

Механизм действия адренергических рецепторов.



Альфа-1 — стимуляция приводит к спазму артериол, повышению давления, снижению сосудистой проницаемости.

Альфа-2 — локализируются в гипоталамо-гипофизарной зоне, являются «петлёй обратной отрицательной связи» для адренергической системы, их стимуляция ведёт к снижению артериального давления.

Бета-1 — стимуляция приводит к увеличению частоты и силы сердечных сокращений, к повышению потребности миокарда в кислороде и повышению артериального давления

Бета-2 — стимуляция вызывает расширение бронхиол и снятие бронхоспазма. Эти же рецепторы находятся на клетках печени, воздействие на них гормона вызывает гликогенолиз и выход глюкозы в кровь.

Десенсублизация рецепторов

Этим термином обозначают явление быстро развивающегося понижения реактивности рецепторно-эффекторного комплекса клеток вследствие действия на него агониста. То есть, в узком смысле слова, десенсублизация - это переход рецептора в новое состояние (иную конформацию) после его взаимодействия с агонистом, при котором продолжение действия вещества не приводит к дополнительной активации эффекторной системы. Рецептор, находящийся в этой конформации переходит в неактивное состояние.

В НОРМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ В АКТИВНОМ СОСТОЯНИИ НАХОДИТСЯ ЛИШЬ МАЛАЯ ЧАСТЬ РЕЦЕПТОРОВ К ЭНДОГЕННЫМ ЛИГАНДАМ.

Десенситилизация рецепторов

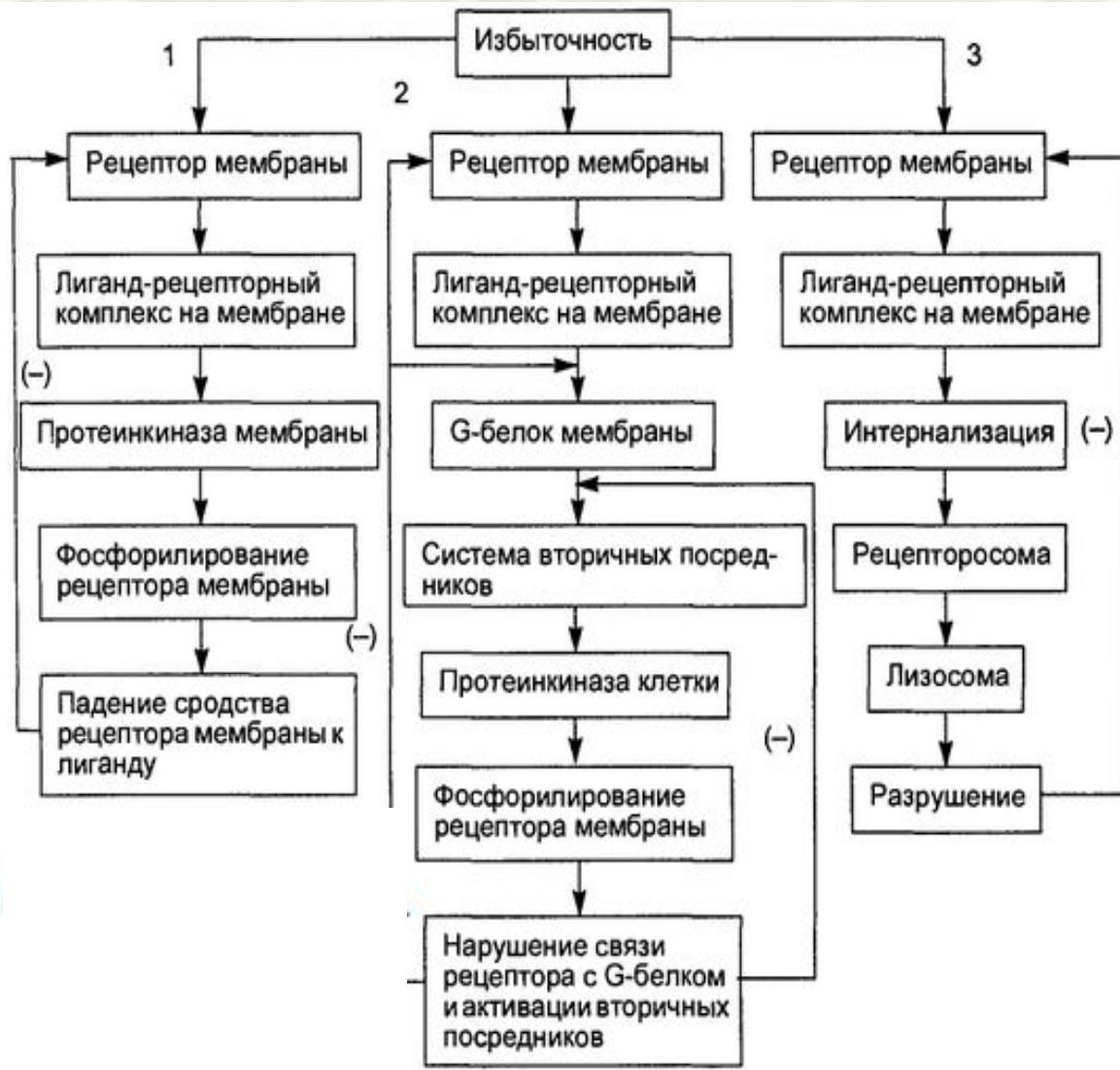
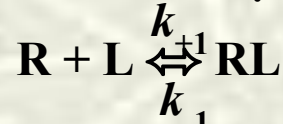


СХЕМА ТРЕХ ПУТЕЙ ДЕСЕНСИТИЗАЦИИ КЛЕТКИ К ИЗБЫТОЧНОМУ ВНЕШНЕМУ РЕГУЛЯТОРНОМУ СИГНАЛУ.

1. Снижение сродства рецептора к лиганду из-за фосфорилирования рецептора мембранной протеинкиназой.
 2. Нарушение связи молекулы рецептора с G-белком при фосфорилировании рецептора цитоплазматическими протеинкиназами.
 3. Интернализация лиганд-рецепторного комплекса и разрушение рецептора ферментами лизосом.
- Стрелками со знаком (—) обозначено подавление процесса взаимодействия.

Взаимодействие между рецептором R и лигандом L описывается уравнением:

лиганд(L)+рецептор(R)=лиганд-рецепторный комплекс



k_{+1} и k_{-1} - константы скоростей прямой и обратной реакции, R, L, RL- соответственно молекулы рецептора, лиганда и лиганд-рецепторного комплекса.

K_d – константа диссоциации комплекса $K_d = k_{-1} / k_{+1}$

K_a – константа связывания $K_a = k_{+1} / k_{-1}$

$$[R] \times [L] \times k_{+1} = [RL] \times k_{-1}$$

$$[R] \times [L] / [RL] = k_{-1} / k_{+1} = K_d$$

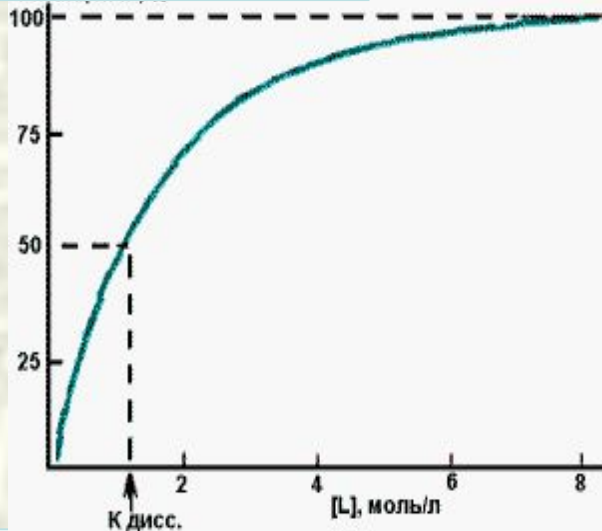
Из уравнения равновесия реакции следует, что если

$$[R] = [RL], \text{ то } K_d = [L]$$

Равенство [R] и [RL] наступает при полунасыщении белка лигандом, т.е. 50% молекул рецептора связаны с лигандом; а 50% свободны. Значит, K_d равна такой концентрации L, при которой достигается насыщение рецептора на 50%. Изменение концентрации RL при постоянной концентрации R и возрастающей концентрации L описывается гиперболической кривой. Максимальная величина RL означает, что все рецепторы связаны с лигандом (кривая насыщения).

Изотерма адсорбции – зависимость степени насыщения рецептора от концентрации лиганда

Количество связавшихся молекул лиганда RL



Концентрация свободного лиганда L

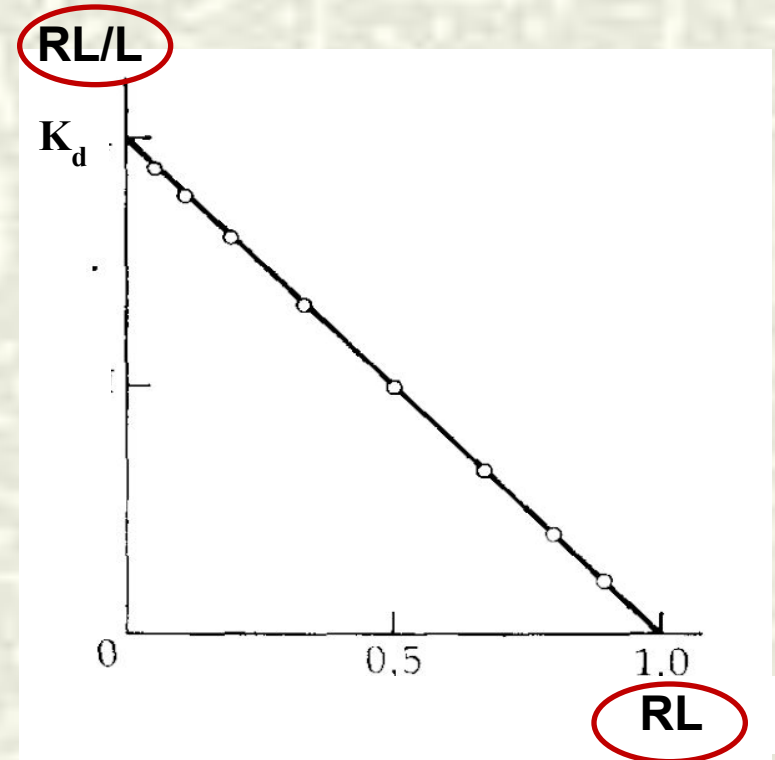


График Скэтчарда, построенный по тем же точкам.

Это самый удобный линейный график для анализа данных по связыванию

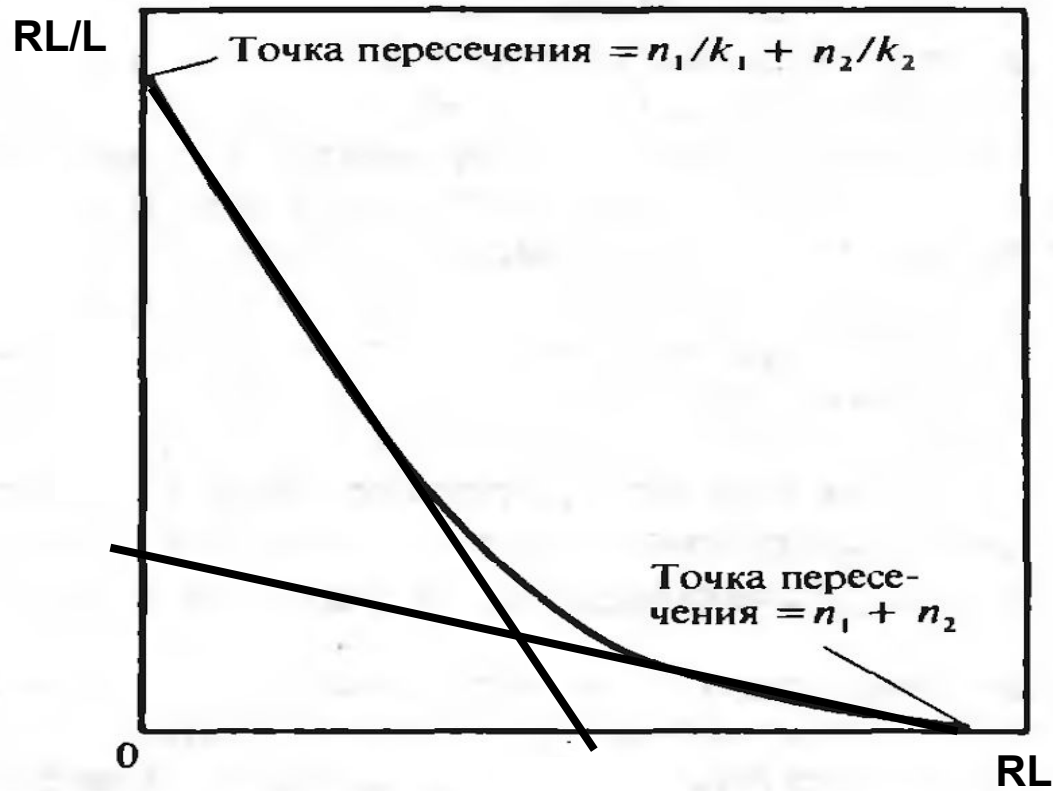
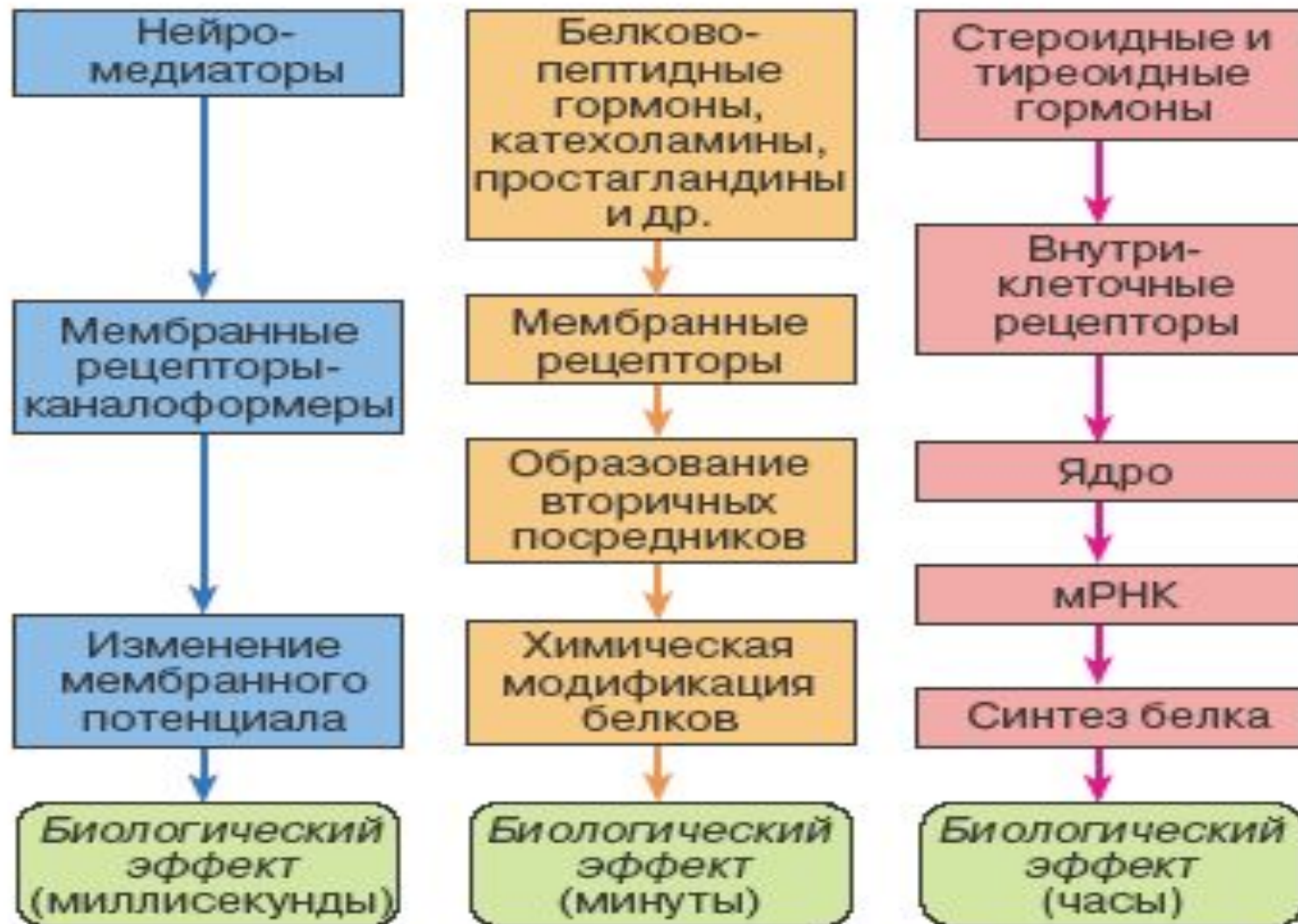
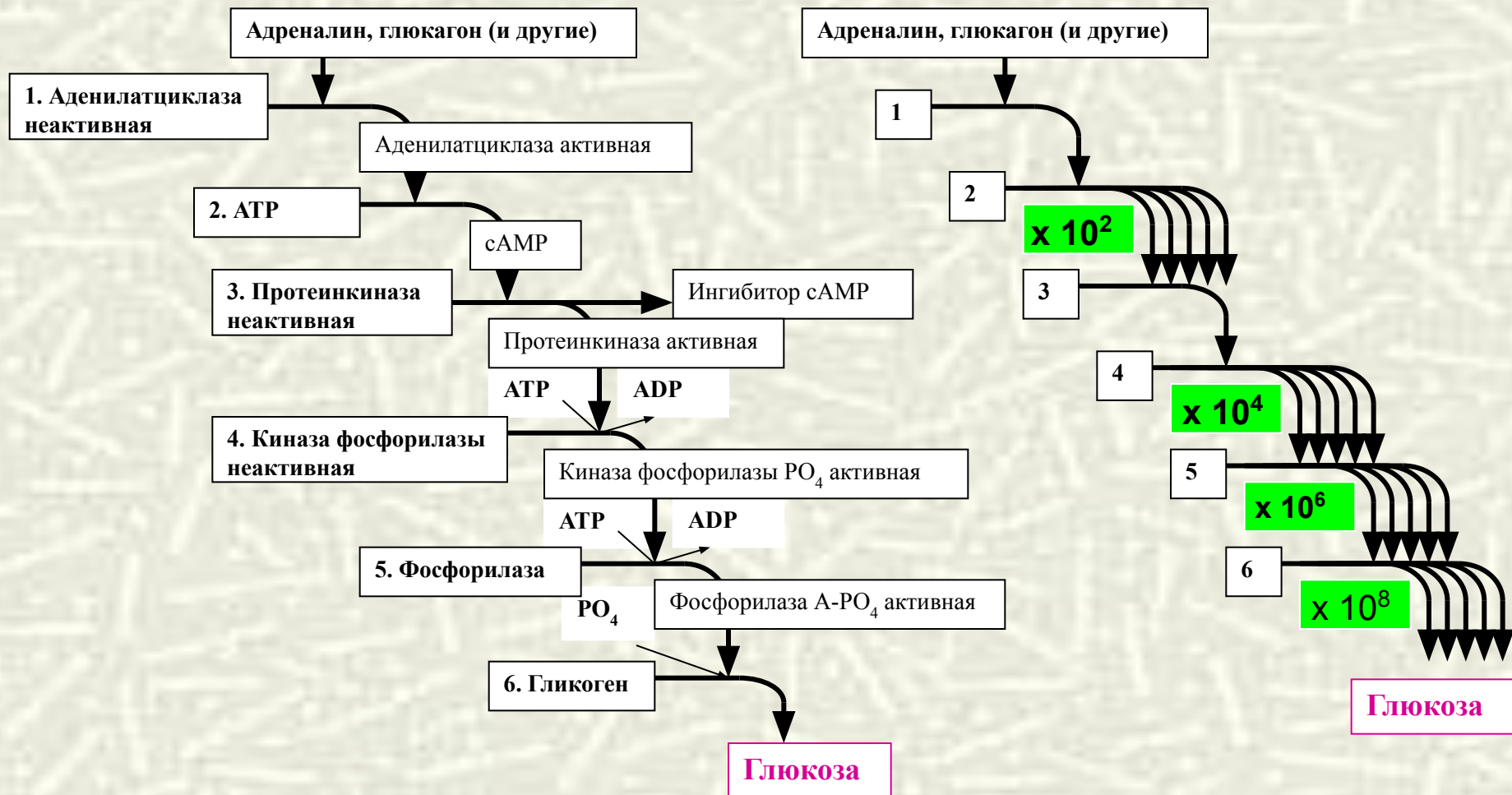


График Скэтчарда, состоящий из двух участков

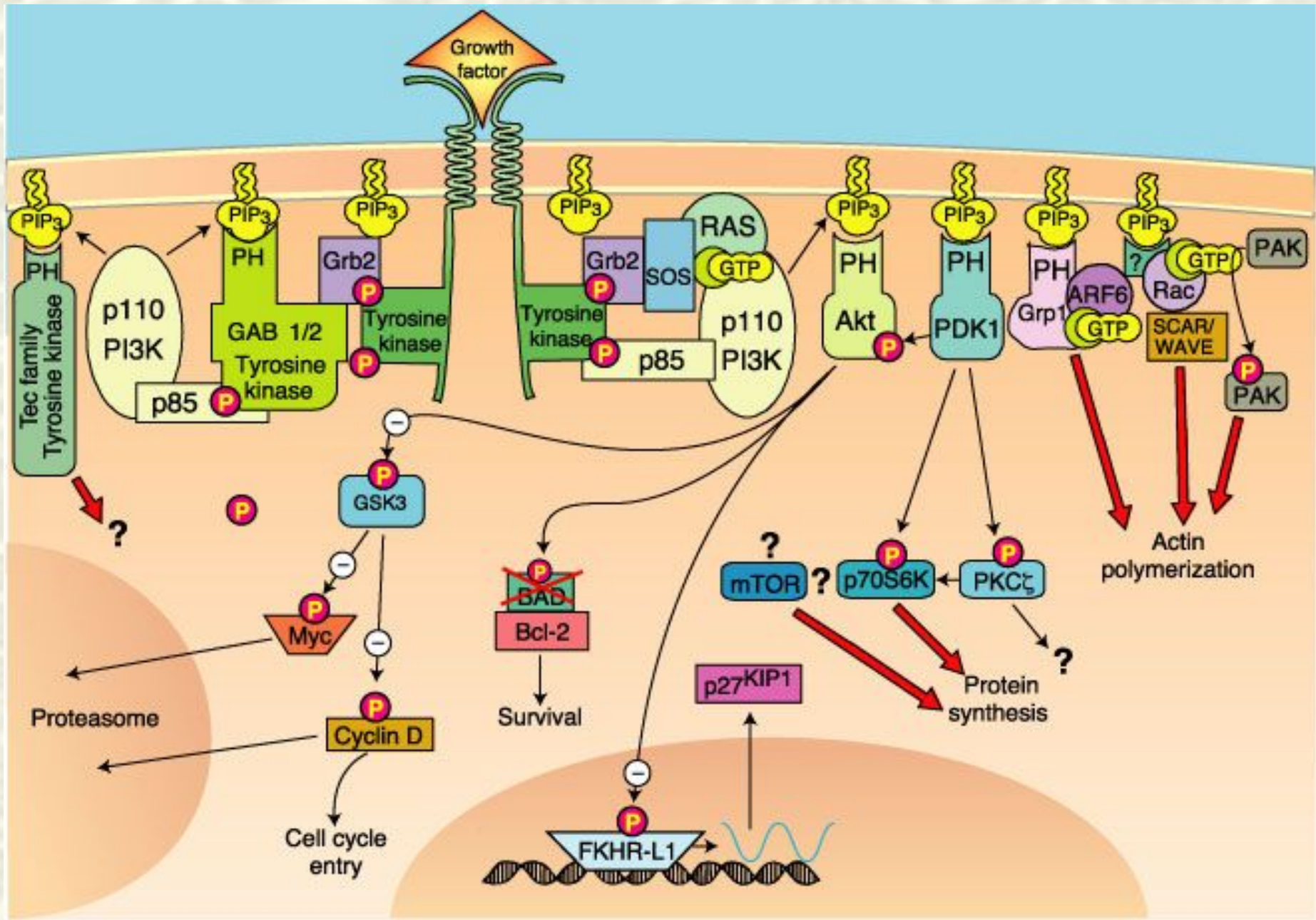
Три основных механизма нейроэндокринной регуляции клеток



Каскадная регуляция сигнала



Сопряжение поверхностных рецепторов с активацией аденилатциклазы через G-белок позволяет не только преобразовывать внеклеточный сигнал во внутриклеточный, но и многократно его усиливать.



СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Албертс Б., Брей Д., Льюс Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. М.: Мир, 1994
2. Де Робертис Э. Новинский В., Саэс Ф. Биология клетки. М., Мир, 2001
3. Зегнбуш П. Молекулярная и клеточная биология. М., Мир, 2004
4. Свенсон К., Уэбстер П. Клетка. М., Мир, 2000.
5. Е.С.Северин, Е.Л.Муйжнек, С.Е. Северин. Концепция вторичных мессенджеров: от фундаментальных основ – к клинической практике. М.: Димитрейд График Групп®, 2005.
6. Биохимия. Под ред. Е.С. Северина. М.: Геотар, 2005.
7. Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Курилова Л.С. Механизмы внутриклеточной сигнализации. СПб. Изд. СПбГУ. 2003.
8. Зинченко В.П., Долгачева Л.П. Внутриклеточная сигнализация. Пущино, 2003.
9. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов. Биологическая химия. изд. Медицина, 2000 г.
10. Я. Кольман, К.-Г. Рем. Наглядная биохимия. 2000 г
11. Stephen R. Bolsover [et al.]. Cell biology: a short course.—2nd ed.
12. Gerhard Krauss. Biochemistry of Signal Transduction and Regulation – Second Edition
13. E.J.M.Helmreich. The biochemistry of cell signaling.