

2.15. Гормональные механизмы регуляции синтеза и активности ферментов

2.15.1. Общая характеристика гормонов

Гормоны – высокоспециализированные регуляторы обменных процессов, изменяющие функции всего организма или отдельных органов и систем

Гормоны вырабатываются в основном в железах внутренней секреции и обладают дистантным действием, т.е. оказывают влияние на отдаленные органы и ткани.

Гормоны характеризуются:

- **высокой биологической активностью**, поэтому образуются и проявляют свое действие в ничтожно малых концентрациях (10^{-6} – 10^{-11} моль/л);
- **небольшим периодом полужизни** – от нескольких минут до нескольких часов;
- **избирательностью действия** - эффекты гормонов высоко специфичны и проявляются лишь в определенных органах-мишенях.

Влияние гормонов на метаболические процессы реализуется через три основных эффекта:

- изменение проницаемости мембран;
- изменение активности ферментов;
- регуляцию биосинтеза белков-ферментов.
-

2.15.2. Классификация гормонов

Гормоны классифицируются по различным признакам: месту выработки, химической природе, локализации рецепторов, растворимости, влиянию на обмен веществ и др.

По химической природе все гормоны делятся на 4 группы: белковые и пептидные, аминокислотные, стероидные и производные жирных кислот

По растворимости различают:

- гидрофильные (гормоны белковой природы и катехоламины);
- липофильные (гормоны стероидной природы, производные жирных кислот и йодтиронины).

По локализации рецепторов в зависимости от растворимости гормоны делятся на:

- гормоны **мембранной** рецепции (белковой, пептидной и аминокислотной природы, за исключением йодтиронинов);
- гормоны **цитозольной** (цитоплазматической) рецепции (йодтиронины, гормоны стероидной природы и витамин Д)

2.15.3. Механизм действия гормонов

2.15.3.1 Характеристика рецепторов

Гормоны осуществляют свое биологическое действие, связываясь с соответствующими рецепторами в органах-мишенях.

Рецепторы – информационные молекулы, трансформирующие гормональный сигнал в биологические эффекты

По своей химической природе являются гликопротеинами, конформация которых комплементарна конформации гормона.

Рецепторы обладают:

- ограниченной емкостью;
- тканевой специфичностью;
- избирательностью действия;
- высоким сродством к гормону.

2.15. 3.2. Механизм действия гормонов цитозольной (цитоплазматической) рецепции.

Липофильные гормоны диффундируют через плазматическую мембрану и взаимодействуют со специфическими рецепторами внутри клетки, имеющими сродство к данному гормону (H). Эти рецепторы (R) находятся или в цитоплазме или в ядре клетки, где соответственно и образуется гормон-рецепторный комплекс (HR). Если он сформирован в цитоплазме, то поступает в ядро и связывается с ДНК, регулируя процесс транскрипции, т.е. синтеза матричной РНК (м-РНК). Аналогично действует гормон-рецепторный комплекс, сформированный непосредственно в ядре.

Вновь образованная м-РНК поступает из ядра в цитоплазму, где запускает процесс трансляции, т.е. синтез новых белков-ферментов (рис. 10).

Помимо влияния на синтез белков-ферментов гормоны цитозольной рецепции повышают проницаемость клеточных мембран для субстратов.

Таким образом, в результате действия гормонов цитозольной рецепции в клетке увеличивается количество ферментов и субстратов, что приводит к определенным биологическим эффектам.

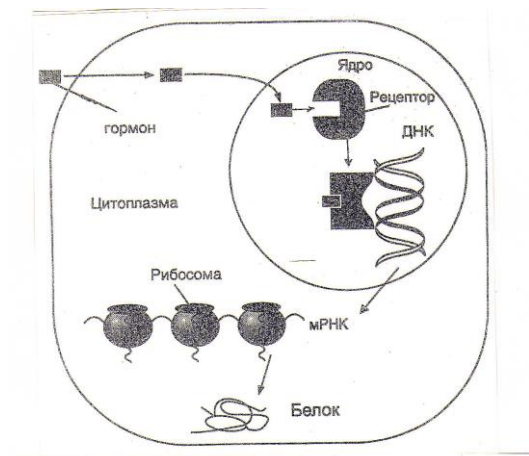


Рис.10. Механизм действия гормонов цитозольного типа рецепции

2.15.3.3. Механизм действия гормонов мембранной рецепции

Через мембранные рецепторы реализуют свои эффекты гидрофильные гормоны белковой и аминокислотной природы (гормоны гипофиза, катехоламины и др.), которые не могут проникнуть через билипидный слой плазматической мембраны. Поэтому для передачи гормонального сигнала в клетке образуются вторичные посредники (мессенджеры), в зависимости от характера которых все гормоны мембранной рецепции могут быть разделены на 3 группы:

- гормоны, реализующие свои эффекты через циклические нуклеотиды (цАМФ и ц-ГМФ),
- гормоны, действующие через ионы кальция; -
- гормоны, действующие через другие мессенджеры (NO, ДАГ, инозитол-3-фосфат)

2.15.3.3.1. Механизм действия гормонов через цАМФ

Образование циклической АМФ осуществляется в аденилатциклазной системе, включающей рецептор к данному гормону, ферменты-аденилатциклазу, встроенную в мембрану, и протеинкиназу А, - а также G (джи) белок, выполняющий роль трансммиттера, передающего сигнал от рецептора к аденилатциклазе. G-белок является олигомерным белком и состоит из трех субъединиц (протомеров)– α , β , γ , которые в отсутствии гормонального сигнала соединены между собой, а α -субъединица также связана с молекулой ГДФ (отсюда и произошло название белка). G-белок непосредственно контактирует с рецептором, воспринимающим действие гормона (рис.11).

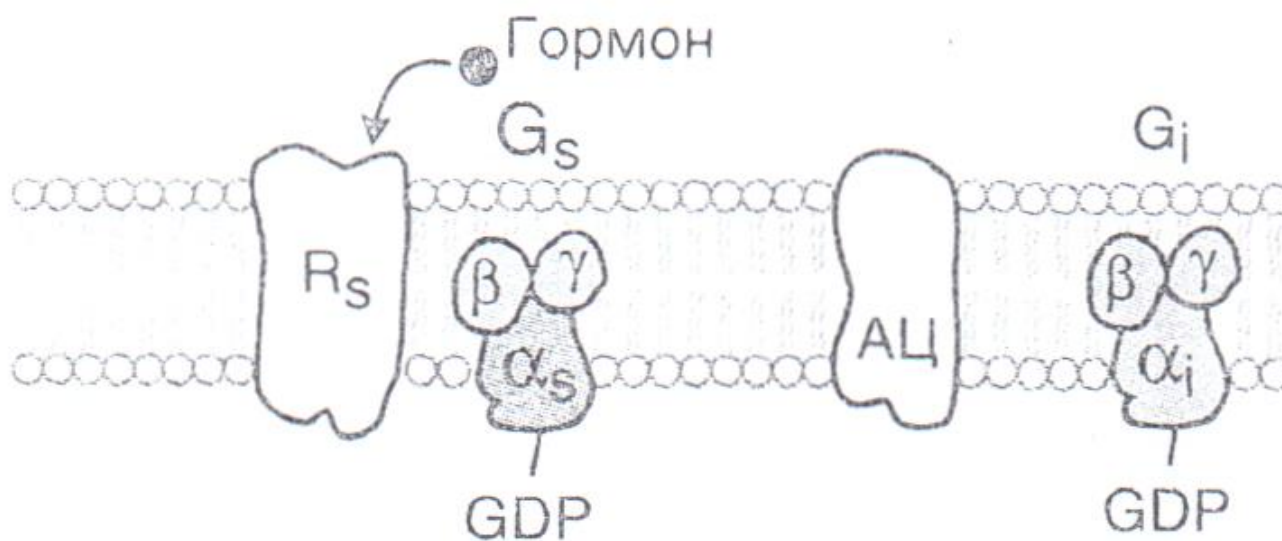


Рис.11. Гормон, рецептор, G-белок и аденилатциклаза.

1. Взаимодействие гормона с рецептором и активация аденилатциклазы

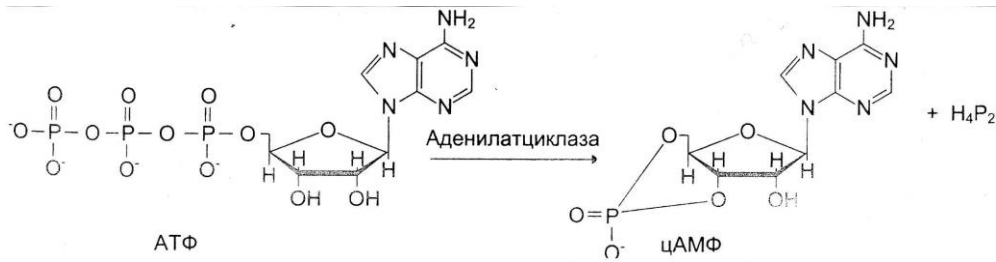
При взаимодействии гормона с рецептором происходит изменение конформации рецептора, что в свою очередь сопровождается изменением структуры G-белка – α -субъединица теряет сродство с ГДФ и связывается с ГТФ, затем отделяется от двух остальных субъединиц, и диффундирует по внутренней стороне мембраны к аденилатциклазе, которая при взаимодействии с ней переходит в активное состояние. После этого связанная с α -субъединицей G-белка молекула ГТФ гидролизуется до ГДФ, α -субъединица отделяется от аденилатциклазы и вновь соединяется с β - и γ -протомерами. Если при этом рецептор больше не связан с гормоном она так и остается в комплексе с ними; если же рецептор продолжает взаимодействовать с гормоном, то в α -субъединице вновь совершается замена ГДФ на ГТФ, и все описанные процессы повторяются вновь (рис. 12, стр. 51).

2. Образование циклоАМФ

Активированная при участии G-белка аденилатциклаза осуществляет гидролиз АТФ до цАМФ и пирофосфата.

Циклическая АМФ (цАМФ) выполняет функцию вторичного мессенджера в механизме действия ряда гормонов. Она представляет собой мононуклеотид, в котором остаток фосфорной кислоты связан одновременно с двумя гидроксильными группами рибозы в положениях 5' и 3'. Концентрация цАМФ в клетке может уменьшаться либо при понижении активности аденилатциклазы,

либо при активации другого мембраносвязанного фермента – фосфодиэстеразы, под действием которой цАМФ распадается до адениловой кислоты (АМФ).



3. Активация протеинкиназ

Протеинкиназы (ПК) являются аллостерическими ферментами и состоят из 4 субъединиц (тетрамер), две из которых являются каталитическими (С), а две – регуляторными (R). Комплекс R₂C₂ лишен ферментативной активности, так как активные центры каталитических субъединиц «замаскированы» регуляторными субъединицами. Последние имеют по два участка (аллостерических центра) для связывания цАМФ (рис.12). В зависимости от характера мессенджера в клетке функционируют несколько различных протеинкиназ: так, например, цАМФ активирует протеинкиназу А, цГМФ – протеинкиназу G, диацилглицерин-протеинкиназу С и т.д

цАМФ является аллостерическим активатором протеинкиназ, локализованных как в цитоплазме, так и в ядре клетки

Присоединение 4 молекул цАМФ к двум регуляторным субъединицам протеинкиназы приводит к диссоциации тетрамерного неактивного комплекса с высвобождением 2 каталитических субъединиц с двумя открытыми активными центрами (рис. 12)

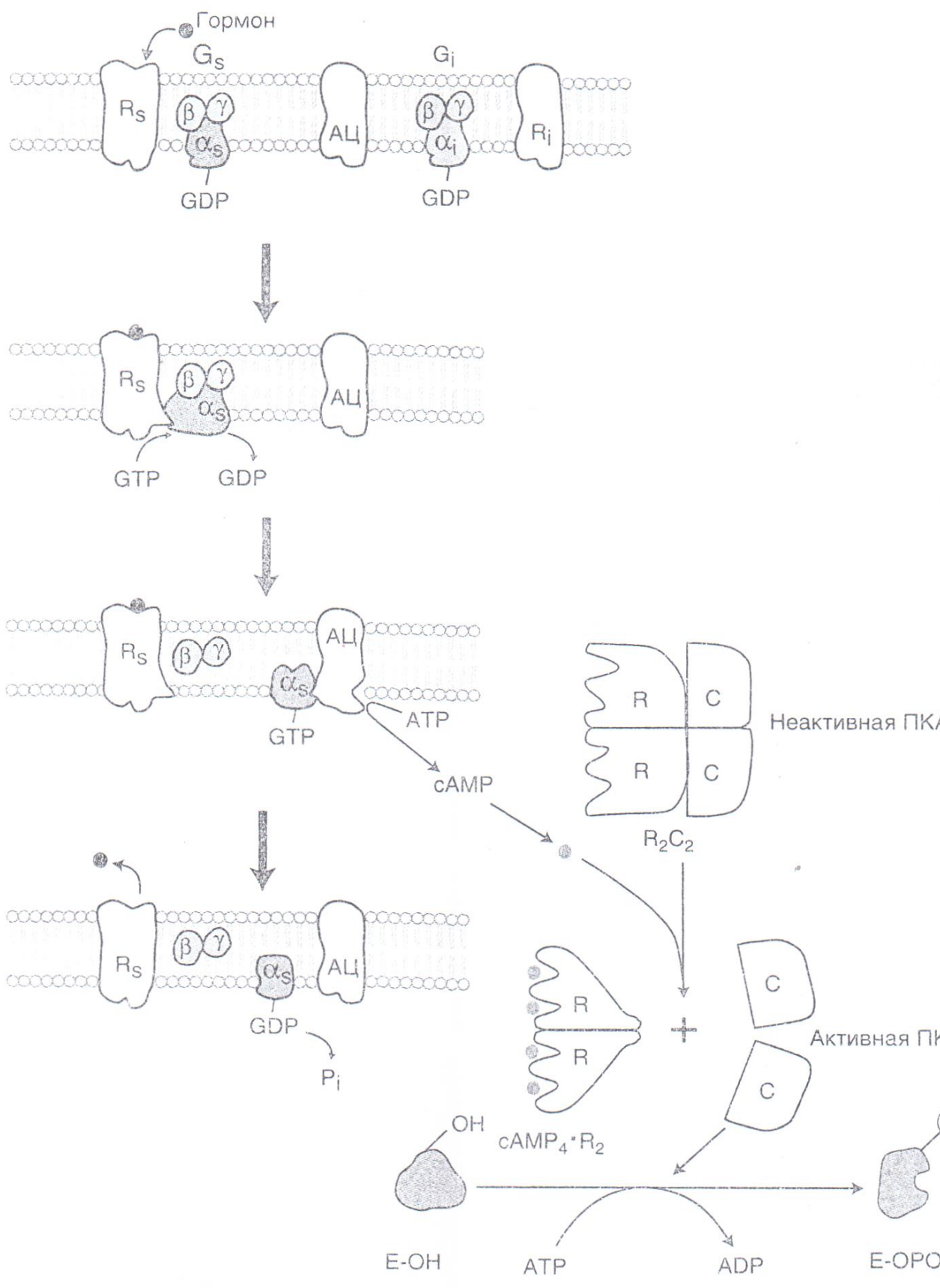


Рис.12. Механизм действия гормонов мембранного типа рецепции.

4. Фосфорилирование белков

Протеинкиназы фосфорилируют целый ряд белков (по остаткам серина или треонина), перенося на них остаток фосфорной кислоты от АТФ, что приводит к изменению конформации и активности белков (рис.13)

Они осуществляют:

- фосфорилирование белков-ферментов, что в большинстве случаев приводит к их активации и, в отдельных случаях, к ингибированию.
- фосфорилирование гистонов, входящих в состав хроматина, что активирует процессы транскрипции;
- фосфорилирование рибосомальных белков, что активирует процессы трансляции, т.е. синтеза новых белков-ферментов (рис.13).

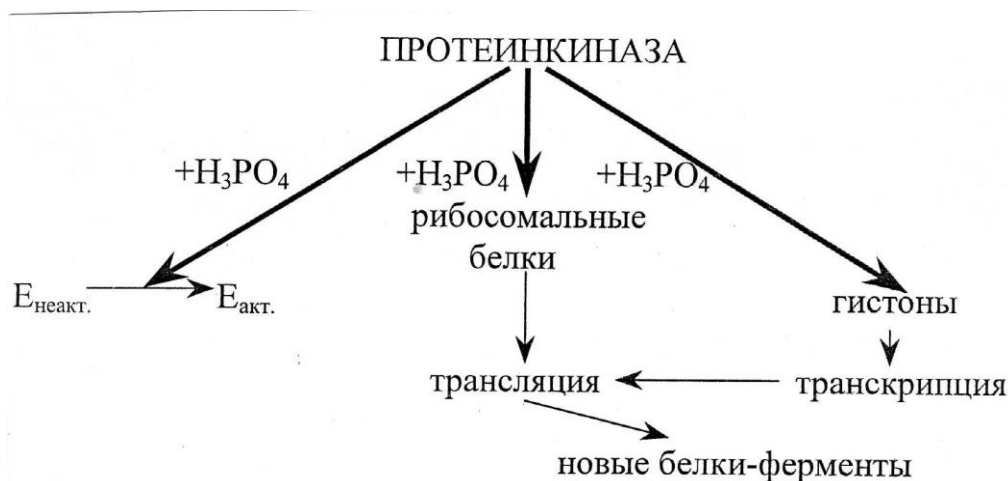


Рис. 13. Механизм действия протеинкиназ.

Таким образом, гормоны мембранного типа рецепции повышают проницаемость клеточных мембран, стимулируют синтез новых белков-ферментов и в отличие от гормонов цитозольного типа рецепции повышают активность ферментов.

2.15.3.3.2. Каскадный механизм усиления гормонального сигнала

В процессе реализации гормонального эффекта происходит усиление гормонального сигнала по каскадному механизму в миллионы раз. Каскадный механизм заключается в том, что одна молекула гормона может взаимодействовать с несколькими G-белками, каждый из которых затем активирует несколько молекул аденилатциклазы с образованием тысяч молекул цАМФ. На этом этапе сигнал усиливается в 100-1000 раз. Каждая молекула цАМФ активирует несколько молекул протеинкиназ, усиливая сигнал еще в 1000 раз. Каждая молекула протеинкиназы способна фосфорилировать 1000 молекул

белков. Таким образом в процессе передачи гормонального сигнала происходит его суммарное усиление в 10^6 - 10^7 раз.

2.15.3.3.3. Механизмы прекращения гормонального эффекта

1. При продолжительном действии гормона снижается чувствительность рецепторов: они либо инактивируются, либо погружаются вместе с гормоном путем эндоцитоза внутрь клетки.
2. Гормон-рецепторный комплекс (HR) диссоциирует, что сопровождается расщеплением ГТФ до ГДФ в G-белке и ингибированием аденилатциклазы. Это приводит к прекращению образования цАМФ
3. Активация фосфодиэстеразы (ФДЭ) приводит к разрыву фосфодиэфирной связи в цАМФ с образованием АМФ.
4. В отсутствие цАМФ активация протеинкиназы прекращается и её регуляторные и каталитические субъединицы вновь объединяются в неактивный комплекс R_2S_2
5. Активируются протеинфосфатазы, осуществляющие дефосфорилирование ферментов, гистонов, рибосомальных белков, что приводит к изменению активности ферментов и прекращению их синтеза

Вопросы для проверки усвоения

Выберите из предложенных ответов один правильный

1. Необратимая потеря ферментативной активности вызывается

- а) денатурацией
- б) конформационными изменениями
- в) охлаждением
- г) увеличением концентрации субстрата
- д) высаливанием

2. Международная классификация разделяет ферменты на классы в соответствии с

- а) структурой
- б) субстратной специфичностью
- в) активностью
- г) типом катализируемой реакции
- д) органной принадлежностью

3. Изоферменты – это ферменты, катализирующие одну и ту же реакцию, и

- а) имеющие одинаковую молекулярную массу, но различающиеся по первичной структуре

- б) различающиеся разным соотношением функциональных заряженных групп
- в) являющиеся продуктами конформационной изомерии
- г) имеющие различное субъединичное строение
- д) все перечисленное верно

4. В кардиоците в наибольшем количестве содержатся следующие изоферменты ЛДГ

- а) ЛДГ_{1,2}
- б) ЛДГ_{2,3}
- в) ЛДГ₃
- г) ЛДГ₄
- д) ЛДГ₅

5. Катал – это единица, отражающая

- а) концентрацию активатора
- б) концентрацию фермента
- в) концентрацию ингибитора
- г) активность фермента
- д) коэффициент молекулярной экстинкции

6. Активность фермента, выраженная в международных единицах, имеет размерность

- а) моль/час/л
- б) моль/сек/дл
- в) мкмоль/мин/л
- г) мкмоль/час/мл
- д) мг/мин/л

7. Лигазы катализируют

- а) окислительно-восстановительные реакции
- б) расщепление субстрата с участием воды
- в) перенос различных группировок от одного субстрата к другому
- г) реакции синтеза
- д) расщепление субстрата

8. Основной механизм активации ферментов желудочно-кишечного тракта

- а) фосфорилирование
- б) дефосфорилирование
- в) ограниченный протеолиз
- г) аллостерическая активация
- д) изменение четвертичной структуры

9. Применение в медицинской практике сульфаниламидных препаратов основано на

- а) конкурентном ингибировании ферментов микроорганизмов
- б) неспецифическом ингибировании ферментов микроорганизмов
- в) изменении третичной структуры ферментов микроорганизмов
- г) активации ферментов, уничтожающих микроорганизмы
- д) изменении первичной структуры ферментов микроорганизмов

10. Оптимальным рН для действия пепсина является

- а) 1,5 – 2,5
- б) 4,5 – 5,0
- в) 6,8 – 7,0
- г) 7,5 – 8,5
- д) 9,5 – 10,0

11. Ретроингибирование относится к типу

- а) неспецифического ингибирования
- б) специфического необратимого ингибирования
- в) специфического обратимого конкурентного ингибирования
- г) специфического обратимого неконкурентного ингибирования

12. Ингибирование холинэстеразы нейропаралитическими ядами протекает по типу

- а) специфического обратимого конкурентного ингибирования
- б) специфического обратимого неконкурентного ингибирования
- в) специфического необратимого ингибирования
- г) неспецифического ингибирования
- д) ретроингибирования

13. Каталитический участок активного центра сложных ферментов может быть представлен

- а) группой аминокислот
- б) витаминами и их производными
- в) ацетил - СоА
- г) альфа-кетоглутаратом
- д) изоцитратом

14. Скорость ферментативной реакции при изменении температуры в пределах от нуля градусов Цельсия до температурного оптимума фермента изменяется в результате

- а) изменение заряда аминокислот якорного участка активного

- центра
- б) изменения скорости броуновского движения молекул
 - в) денатурации
 - г) изменения заряда аминокислот каталитического участка активного центра
 - д) высаливания

15. Изменение рН среды приводит к изменению скорости ферментативной реакции вследствие

- а) изменения степени ионизации субстрата и скорости движения молекул
- б) изменения третичной структуры ферментов
- в) нарушения комплементарности активного центра фермента и субстрата в результате денатурации апофермента
- г) нарушения комплементарности активного центра фермента и субстрата в результате изменения кофактора
- д) связывания металлов

16. Специфичность пепсина

- а) групповая
- б) индивидуальная
- в) стереохимическая
- г) полностью отсутствует

17. Промежуточные продукты гидролиза крахмала – декстрины можно обнаружить с помощью

- а) биуретовой реакции
- б) реакции Молиша
- в) йодной пробы
- г) реакции Фелинга

18. Конечными продуктами гидролиза крахмала являются

- а) ахродекстрины
- б) мальтоза
- в) глюкоза
- г) фруктоза
- д) сахароза

19. Фермент, катализирующий реакцию - аспарагиновая АТФ

кислота +NH₃ → аспарагин, - относится к классу

- а) оксидоредуктаз
- б) изомераз

- в) лигаз
- г) лиаз
- д) трансфераз

20. Повышение активности ферментов в сыворотке крови может быть результатом

- а) усиленной пролиферации клеток
- б) разрушения клеток
- в) повышенного синтеза ферментов
- г) пониженного распада ферментов
- д) ретроингибирования

21. Фермент, катализирующий реакцию $-\text{COOH} - \text{CH}=\text{CH} - \text{COOH} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{COOH} - \text{CH}_2 - \text{CHOH} - \text{COOH}$, относится к классу

- а) оксидоредуктаз
- б) гидролаз
- в) изомераз
- г) лиаз
- д) трансфераз

22. Отличием аллостерических ферментов является

- а) устойчивость к действию высоких температур
- б) отклонение кинетики реакций от уравнения Михаэлиса-Ментен
- в) способность высаливаться из растворов
- г) низкая электрофоретическая подвижность
- д) наличие ионов металлов в активном центре

23. Наследственные энзимопатии являются следствием

- а) нарушения биосинтеза ферментов
- б) изменения их третичной структуры
- в) выпадения отдельных изоферментов
- г) разрушения под действием высоких температур
- д) нарушением компартментализации

24. Действие малоната, являющегося конкурентным ингибитором сукцинатдегидрогеназы, можно снять путем

- а) изменения рН среды
- б) повышения температуры
- в) увеличения концентрации сукцината
- г) введения активатора
- д) повышения концентрации продукта реакции

25. Изостерическое ингибирование – это

- а) неспецифическое ингибирование
- б) специфическое необратимое ингибирование
- в) специфическое обратимое неконкурентное ингибирование
- г) ретроингибирование
- д) специфическое обратимое конкурентное ингибирование

26. Укажите тип ингибирования ферментов, вызываемого действием насыщенного раствора сернокислого аммония

- а) специфическое обратимое
- б) специфическое необратимое
- в) специфическое обратимое неконкурентное
- г) неспецифическое необратимое
- д) неспецифическое обратимое

27. Снижение активности фермента при повышении температуры от оптимума до 80–90 °С обусловлено изменением

- а) первичной структуры
- б) вторичной структуры
- в) третичной структуры
- г) четвертичной структуры

28. Фермент, катализирующий расщепление жира на глицерин и жирные кислоты, относится к

- а) гликозидазам
- б) фосфатазам
- в) эстеразам
- г) пептидазам
- д) протеазам

29. ЛДГ₃ представлена следующим сочетанием субъединиц

- а) HM_3
- б) H_2M_2
- в) H_3M
- г) H_4
- д) M_4

30. Первичная структура М-субъединиц ЛДГ отличается тем, что содержит

- а) много лизина и мало аспарагиновой кислоты
- б) много аспарагиновой кислоты и лизина
- в) мало аспарагиновой кислоты и лизина

- г) мало лизина и много аспарагиновой кислоты
- д) много аспарагиновой кислоты

31. Понижение активности амилазы мочи может быть следствием

- а) острого панкреатита
- б) хронического панкреатита
- в) гепатита
- г) паротита
- д) инфаркта миокарда

32. Реакция лактат → пируват катализируется

- а) ЛДГ_{1,2}
- б) ЛДГ₃
- в) ЛДГ_{4,5}
- г) ЛДГ_{3,5}

33. Преимуществами энзимотерапии являются

- а) связывание ферментами токсинов микроорганизмов
- б) быстрое выведение токсинов из организма
- в) быстрая доставка ферментов к пораженным органам
- г) строгая специфичность действия
- д) отсутствие иммунного ответа

О Т В Е Т Ы

1 а 2 г 3 д 4 а 5 д 6 в 7 г 8 в 9 а 10 а 11 д 12 в 13 а 14 б

15 б 16 а 17 в 18 б 19 в 20 д 21 г 22 б 23 а 24 в 25 д 26 д 27 в 28 в

29 б 30 а 31 б 32 а 33 г