

## MOLECULAR MECHANISMS OF NEURO-HORMONAL REGULATION

V. A. TKACHUK

*A neuro-hormonal system affects cells by ion gradient(s) modulation (within milliseconds), chemical modification of proteins (within several minutes) and induction/repression of protein synthesis (within several hours). The mechanisms of hormone- and neuromediator-triggered reception, amplification and termination of the regulatory signals are discussed.*

*Нейроэндокринная система организма действует на клетки путем изменения ионных градиентов (за миллисекунды), химической модификации белков (за минуты) и индукции – репрессии синтеза белков (за часы). Рассмотрены механизмы рецепции, а также проведения, усиления и гашения регуляторных сигналов, вызываемых нейромедиаторами и гормонами.*

© Ткачук В.А., 1998

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОЭНДОКРИННОЙ РЕГУЛЯЦИИ

В. А. ТКАЧУК

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

### ВВЕДЕНИЕ

Все процессы жизнедеятельности у человека и животных находятся под контролем нервных клеток, которые секретируют в синаптическую щель нейромедиаторы, и эндокринных желез, которые выделяют в кровь гормоны. Гормоны и нейромедиаторы сообщают органам и тканям, **что, когда и сколько** они должны производить. **Когда** – определяется временем секреции, **сколько** – количеством секретированного гормона или нейромедиатора, **что** – наличием рецепторов к этим молекулам только у определенной группы клеток, специализирующихся в отношении данной функции. Среди нейроэндокринных механизмов регуляции существует своя иерархия, тесно связанная со скоростями развития и гашения их сигналов, а также с молекулярными механизмами их действия (рис. 1).

Отклонение от нормы того или иного процесса жизнедеятельности включает нервную систему регуляции, и нейромедиаторы, изменяя активность ионных каналов (являющихся одновременно рецепторами нейромедиаторов, рис. 2), вызывают гипер-

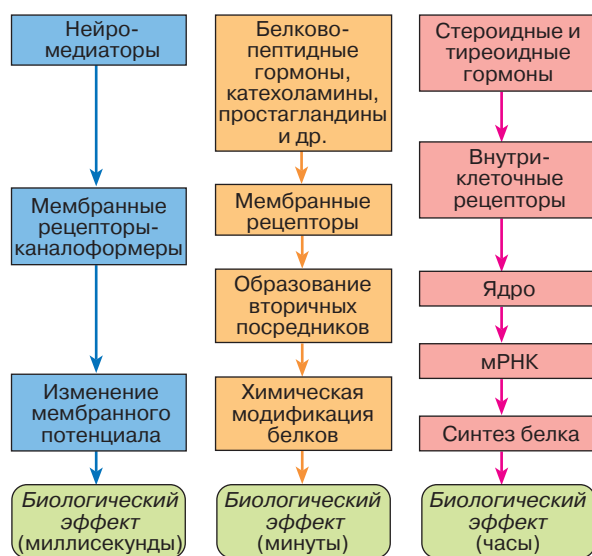
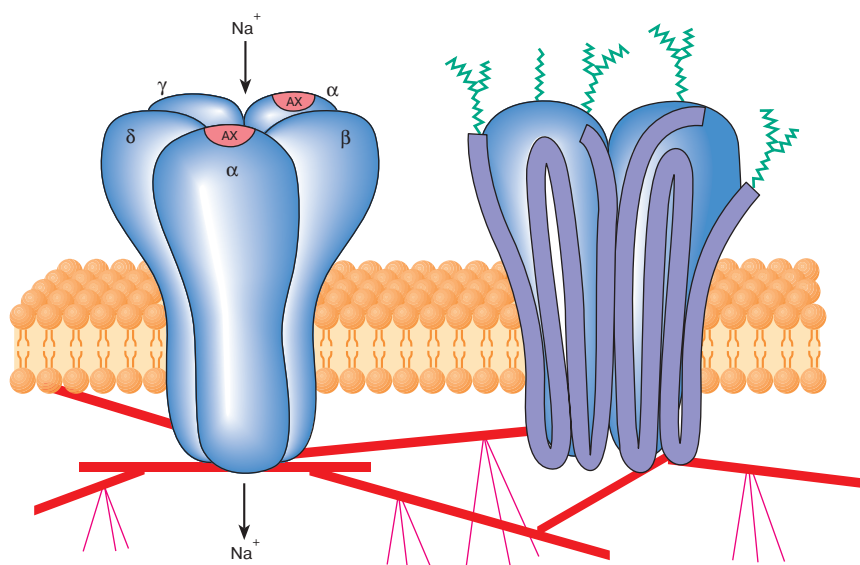


Рис. 1. Три основных механизма нейроэндокринной регуляции клеток



**Рис. 2.** Структура холинергического рецептора никотинового типа, формирующего ионный канал. Субъединицы, полипептидные цепи которых четыре раза пронизывают липидный бислой, гликозилированы извне клетки, а внутри взаимодействуют с белками тубулинового и актинового цитоскелета. Связывание ацетилхолина (АХ) с двумя  $\alpha$ -субъединицами холинергического рецептора вызывает конформационные изменения в олигомерном комплексе, в результате чего  $\text{Na}^+$  входит внутрь клетки

или деполяризацию мембраны. Эта регуляция клеточной активности, происходящая за счет физических процессов (перемещение ионов через мембрану), развивается и гасится за доли секунды (рис. 1, слева).

Если нервная система не в состоянии вернуть тот или иной фактор гомеостаза к норме, подключаются гормоны, действующие через мембранные рецепторы и системы вторичных посредников, которые стимулируют химическую модификацию белков. Эта регуляция (рис. 3), происходящая за счет химических процессов (синтез и расщепление вторичного посредника, фосфорилирование и дефосфорилирование белка), развивается и гасится за минуты или десятки минут (рис. 1, в центре).

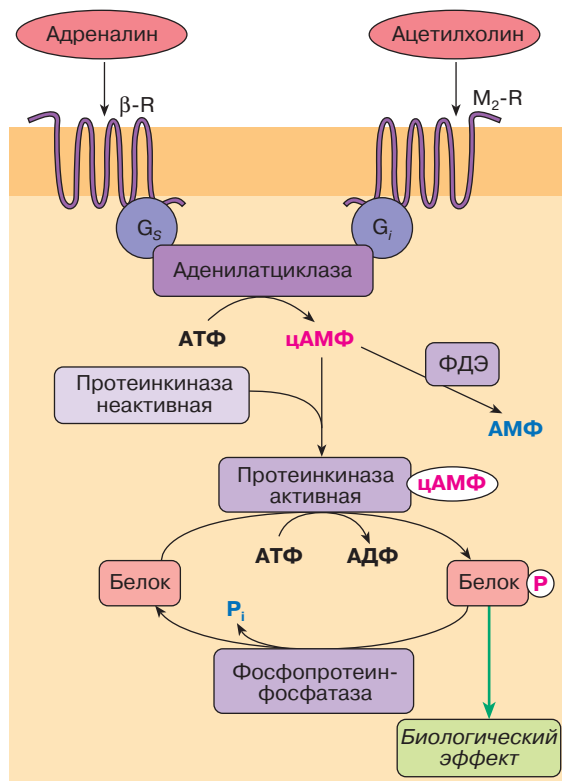
Если же отклонения от нормы того или иного процесса достигают опасных для организма величин или же должны произойти фенотипические изменения клеток, подключаются стероидные и тиреоидные гормоны, которые имеют цитозольные или ядерные рецепторы, что позволяет им взаимодействовать с хроматином и влиять на экспрессию генов (рис. 4). Эта регуляция, развивающаяся путем индукции или репрессии синтеза мРНК и белков, реализуется спустя 3–6 ч после появления гормона в крови, а гасится спустя 6–12 ч (рис. 1, справа).

Промежуточное положение в этой иерархии занимают факторы роста, рецепторы которых являются тирозиновыми киназами. Взаимодействие фактора роста с рецептором приводит сначала к фосфорилированию определенных белков по ОН-группам тирозина, а затем к проникновению этих фосфорилированных белков или самих факторов роста (иногда вместе с рецептором) в ядро, что может вызывать деление клеток. Следует отметить также, что многие нейромедиаторы (например, ацетилхолин,  $\gamma$ -аминомасляная кислота), диффунди-

руя из синаптической щели (которая всегда сообщается с межклеточным пространством) в кровь, приобретают свойства гормонов, вызывающих фосфорилирование белков.

## ИЗМЕНЕНИЕ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА

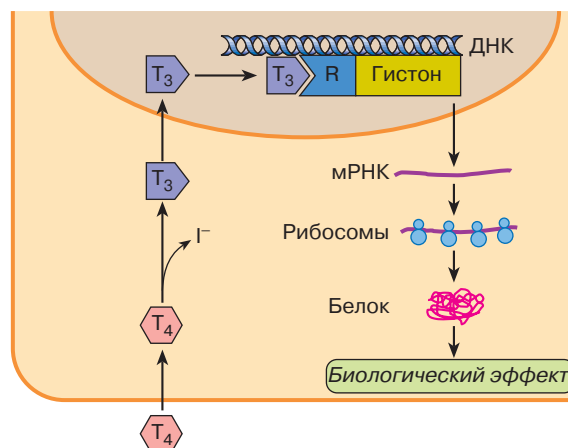
На рис. 2 показана структура так называемого никотинового холинорецептора. Он локализован на постсинаптической мембране клетки и при связывании ацетилхолина изменяет свою конформацию таким образом, что через устье, сформированное субъединицами, внутрь клетки устремляются ионы  $\text{Na}^+$ . Происходит деполяризация, а затем и замена заряда мембраны на противоположный, что приводит к выходу  $\text{K}^+$  из клетки. Ток ионов  $\text{K}^+$  возвращает потенциал мембраны к исходной величине. В процессе этой перезарядки мембраны, называемой потенциалом действия, через этот же канал холинорецептор внутрь клетки могут входить ионы  $\text{Ca}^{2+}$ . Следовательно, этот канал нельзя назвать избирательным в отношении катионов. В то же время это очень быстродействующая регуляторная система – потенциал действия, вызываемый ацетилхолином, возникает и гасится за 1–2 миллисекунды, благодаря чему синапс может проводить от аксона на иннервируемую клетку до 500 имп./с. Такое быстрое развитие и гашение сигнала возможны благодаря скорости связывания ацетилхолина с рецептором, а также высоким скоростям его диссоциации от рецептора и разрушения ацетилхолинэстеразой. Разумеется, не менее важен и механизм открывания канала за счет конформационных переходов, происходящих за наносекунды. Продолжительное и быстрое функционирование холинергического синапса требует также большого запаса ацетилхолина, который синтезируется впрок и накапливается в везикулах пресинаптической мембраны. Кроме того,



**Рис. 3.** Система проведения гормонального сигнала путем образования вторичных посредников и последующей химической модификации белков. Мембранные рецепторы, семь раз пронизывающие липидный бислой ( $\beta$ -R – бета-адренергический рецептор,  $M_2$ -R – холинергический рецептор мускаринового типа) и имеющие сродство к G-белкам ( $G_s$  – G-белок, стимулирующий, а  $G_i$  – G-белок, ингибирующий аденилатциклазу), регулируют образование циклического АМФ (цАМФ) в цитоплазме клетки. Циклический АМФ связывается с протеинкиназой и переводит ее из неактивного в активное состояние. Фосфорилирование ряда белков в клетке по ОН-группам серина или треонина изменяет их свойства и тем самым вызывает биологический эффект данных гормонов. Гормональное влияние на клетку устраняется за счет разрушения гормонов извне клетки, что вызывает диссоциацию гормон-рецепторного комплекса. Вследствие этого происходит разобщение G-белков с аденилатциклазой. Кроме того, фосфодиэстераза (ФДЭ) гидролизует циклический АМФ до АМФ, а фосфопротеинфосфатаза дефосфорилирует фосфобелки, что приводит к полному гашению гормонального сигнала

в клетках должны существовать высокие градиенты ионов  $Na^+$  и  $K^+$  по обе стороны плазматической мембраны, которые создаются и поддерживаются  $Na^+/K^+$ -насосом (см. статью А.А. Болдырева “ $Na^+/K^+$ -АТФаза – свойства и биологическая роль”: Соросовский Образовательный Журнал. 1998. № 4).

Быстродействие ацетилхолина (как и других нейромедиаторов) определяется также особеннос-



**Рис. 4.** Механизм действия гормонов на процессы транскрипции и синтез белков. Показано влияние тироксина ( $T_4$ ), который проникает в клетку и там деиодируется, после чего образовавшийся триодтиронин ( $T_3$ ) связывается в ядре со своим рецептором и, изменяя взаимодействие рецептора с гистонами и ДНК, вызывает транскрипцию матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК). При трансляции мРНК на рибосомах образуется белок, который вызывает биологические эффекты гормона

тями того морфологического образования, которое существует между аксоном и иннервируемой клеткой и которое называется синапсом. Благодаря тому что расстояние между пре- и постсинаптической мембранами составляет всего 300–500 Å, а холинорецепторы сконцентрированы в виде кластеров строго против мест секретиции ацетилхолина, в момент разрыва секреторного пузырька нейромедиатор быстро оказывается в месте его рецепции. Кроме того, при раздражении аксона происходит выброс столь большого количества ацетилхолина, что молекулы этого нейромедиатора мгновенно насыщают все рецепторы и вызывают массиванный вход  $Na^+$  в клетку (развитие потенциала действия).

Холинергические рецепторы никотинового типа имеют очень низкое сродство к ацетилхолину – полумаксимальное насыщение рецепторов наблюдается в присутствии  $10^{-4}$  М ацетилхолина, поэтому как только ацетилхолинэстераза (локализованная, кстати, рядом с холинорецептором) начинает гидролизовать ацетилхолин и понижать его уровень в синапсе, происходят диссоциация этого нейромедиатора от рецептора и возвращение канала в закрытое состояние. Сродство рецептора к нейромедиатору или гормону определяется соотношением скоростей диссоциации и ассоциации гормон-рецепторного комплекса. При константе диссоциации  $10^{-4}$ – $10^{-3}$  М скорость диссоциации ацетилхолина от рецептора составляет доли миллисекунды, что, несомненно, очень важно для быстрого (за 1–2 миллисекунды) восстановления синаптической передачи.

Холинорецептор-каналоформер<sup>1</sup>, функционирующий на постсинаптической мембране, получил название “никотиновый” благодаря тому, что никотин, алкалоид из листьев табака имитирует действие ацетилхолина. На рис. 2 показана структура, которую этот рецептор имеет в электрическом органе рыб или в мышцах эмбрионов. Видно, что полипептидные цепи каждой из субъединиц (две альфа, по одной бета, гамма и дельта) четыре раза пронизывают мембрану (рис. 2, справа). В зрелых дифференцированных мышцах взрослого животного гамма-субъединица в составе холинорецептора замещается на эпсилон-субъединицу, а в нервных клетках этот рецептор представлен лишь тремя альфа- и двумя бета-субъединицами, что приводит к снижению электропроводности канала для ионов Na<sup>+</sup>.

## ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ

Совершенно иную структуру и другой механизм функционирования имеет так называемый мускариновый холинергический рецептор, который локализован преимущественно вне синапса. На этот рецептор не действует никотин, но он прекрасно активируется мускарином (алкалоидом из ядовитых грибов), а также, разумеется, ацетилхолином, к которому имеет сродство порядка 10<sup>-6</sup> М. Существуют по крайней мере четыре типа мускариновых рецепторов, причем все они близки по структуре (полипептидная цепь семь раз пронизывает мембрану) и сопряжены с G-белками, но передают сигнал разным системам внутриклеточной сигнализации. Так, например, М-холинорецепторы могут стимулировать фосфолипазу С, которая гидролизует фосфоинозитиды, и могут ингибировать аденилатциклазу, синтезирующую циклический АМФ (см. рис. 3) и активировать K<sup>+</sup>-канал.

Эффекты мускариновых холинорецепторов развиваются спустя минуты после взаимодействия с рецептором и гасятся за десятки минут. Столь разительное отличие в скоростях проведения ацетилхолинового сигнала между никотиновым и мускариновым рецепторами объясняется прежде всего разной кинетикой связывания лиганда с соответствующими рецепторами (диссоциация ацетилхолина от мускаринового рецептора происходит за десятки минут), сложным каскадом проведения сигнала в случае мускариновой регуляторной системы (необходимо последовательное взаимодействие рецептора с соответствующим G-белком, затем G-белка с определенным ферментом или каналом и т.д.), а также сравнительно медленно протекающими химическими реакциями синтеза вторичных посредников, фосфорилирования и дефосфорилирования белков.

<sup>1</sup> Рецептор ацетилхолина, формирующий канал, через который в клетку входят ионы Na<sup>+</sup>.

В каждой клетке функционируют обычно разные типы рецепторов к одному и тому же гормону (например, как альфа-, так и бета-адренорецепторы). Кроме того, клетка чувствительна обычно к 7–10 разным эндокринным регуляторам (нейромедиаторам, гормонам, простагландинам, факторам роста). Каждый из этих регуляторов имеет характерные только для него продолжительность и амплитуду регуляторного сигнала, для каждого характерно определенное соотношение активностей систем генерации вторичных посредников в клетке или изменения мембранного потенциала. На уровне исполнительных систем клетки может происходить как потенцирование, так и взаимное гашение разных регуляторных сигналов.

В каждой клетке функционирует также специальная биохимическая надстройка, регулирующая чувствительность клеток к гормону. Проиллюстрируем ее на примере рецептора, сопряженного с G-белками. Обычно уровень гормонов, действующих через эту систему трансмембранной сигнализации (к их числу помимо названных выше относятся простагландины, гормоны гипофиза, ангиотензин II, брадикинин, вазопрессин, окситоцин, гистамин, дофамин, энкефалин, эндорфин, серотонин, эндотелин, холецистокинин, гастрин, паратиреоидный гормон), повышается на несколько минут. Этого времени достаточно, чтобы произошло образование нужного количества вторичных посредников (циклического АМФ, Ca<sup>2+</sup>, диацилглицерина), которые вызовут активацию соответствующих протеинкиназ и последующее за этим фосфорилирование белков. Если же уровень гормона сохраняется повышенным в течение десятков минут или нескольких часов (из-за гиперфункции эндокринной железы или фармакологического вмешательства), то происходит десенсibilизация соответствующего рецептора. Сначала протеинкиназа, которая есть в плазматической мембране практически всех клеток, фосфорилирует рецептор, в результате чего его сродство к гормону снижается в 2–5 раз. Эта протеинкиназа может фосфорилировать только гормон-рецепторный комплекс, поэтому, чем дольше гормон связан с рецептором, тем больше вероятность того, что рецептор будет фосфорилирован. Если такое фосфорилирование не в состоянии погасить гормональный сигнал, то спустя 15–30 мин происходит фосфорилирование рецептора протеинкиназой, которая активируется соответствующим вторичным посредником (например, в случае β-адренергических рецепторов, активирующих аденилатциклазу, цАМФ-зависимой протеинкиназой; в случае α1-адренергических или M<sub>1</sub>- и M<sub>3</sub>-холинергических рецепторов, активирующих фосфолипазу С, протеинкиназой С). Фосфорилирование рецепторов протеинкиназами, зависимыми от вторичных посредников, нарушает сопряжение с G-белками, вследствие чего ослабляется активирующее или ингибирующее влияние гормонов, действующих через

эти рецепторы на аденилатциклазу, фосфолипазы А, С и D,  $Ca^{2+}$ - или  $K^+$ -каналы. Если высокий уровень гормона сохраняется в течение нескольких часов, а перечисленные выше механизмы десенсibilизации не в состоянии погасить регуляторный сигнал, происходит эндоцитоз гормон-рецепторных комплексов и внутри клетки появляются рецептосомы. Они могут вновь встроиться в плазматическую мембрану, если уровень гормона понизится в первые 2–3 часа. Если этого не происходит, они сливаются с лизосомами, после чего рецепторы разрушаются. Очевидно, что восстановление чувствительности клетки к этому гормону потребует нового синтеза рецепторов.

### ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ

Как уже отмечалось, на определенных стадиях онтогенеза или при достижении критического для организма отклонения от нормы того или иного фактора гомеостаза (гипотермия, гипогликемия, гипоксемия, потеря крови) включается медленная, но наиболее мощная система эндокринной регуляции, действующая через стероидные (андрогены, эстрогены, прогестины, глюкокортикоиды и минералокортикоиды) и тиреоидные гормоны (тироксин и трийодтиронин). Молекулы этих регуляторов, имея липофильную природу, легко проникают через липидный бислой и связываются со своими рецепторами в цитоплазме или ядре (см. рис. 4). Затем гормон-рецепторный комплекс, который из-за высокого сродства рецепторов к гормону (полу-максимальное насыщение рецепторов происходит в присутствии  $10^{-9}$ – $10^{-10}$  М гормона) не распадается в течение 1–3 ч, связывается с ДНК и белками хроматина, что стимулирует синтез матричной РНК на определенных генах. Трансляция мРНК приводит к появлению в клетке 3–7 новых белков, которые вызывают биологический эффект этих гормонов. Стероидные и тиреоидные гормоны могут также репрессировать некоторые гены, вызывая биологический эффект путем уменьшения количества определенных белков в клетке. Обычно эти гормоны изменяют содержание того или иного белка не путем ускорения–замедления транскрипции функционирующих генов, а за счет включения–выключения новых генов. Так, например, стимулирование глюкокортикоидами аминотрансферазной активности печени происходит благодаря появлению в клетках новых (индуцибельных) изоформ аминотрансфераз. Интересно, что и на этом этапе регуляции эндокринная система заботится о гашении сигнала: индуцибельные изоформы белков, как правило, значительно быстрее инактивируются эндогенными протеазами, чем конститутивные изоформы. В процессах влияния стероидных и тиреоидных гормонов на клетки наиболее загадочным представляется механизм избирательной активации только определенных генов. По-видимому, избирательность обеспечивается тем, что рецепторы этих

гормонов (рецепторные белки) имеют специальные домены, получившие название “цинковые пальцы”, с помощью которых белки могут присоединяться только к определенным участкам нуклеотидных последовательностей ДНК и воздействовать на гены, несущие эти последовательности.

К числу белков, экспрессия которых в клетке контролируется гормонами, относятся не только ферменты, участвующие в метаболизме, но и протеинкиназы, фосфопроteinфосфатазы и другие участники систем проведения нейроэндокринного сигнала, а также многие рецепторы-каналоформеры и рецепторы, регуляторные белки и ферменты, участвующие в обмене вторичных посредников. Благодаря этому стероидные и тиреоидные гормоны могут участвовать в формировании не только возрастных и половых признаков, но и определять психоэмоциональный статус организма, а также баланс катаболических и анаболических реакций в органах и тканях, их чувствительность к нейромедиаторам и гормонам.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы рассмотрели основные механизмы, с помощью которых нейроэндокринная система поддерживает постоянство внутренней среды организма и обеспечивает его адаптацию к изменениям окружающей среды. Следует отметить, что у высших животных гормоны влияют также на поведение и память, а мозг, в свою очередь, контролирует активность эндокринных желез. Едва ли есть смысл в рассуждениях о том, какая система – нервная или эндокринная – более эффективна или более важна, так как эти регуляторные процессы не функционируют обособленно. У человека и животных нейроэндокринная система регуляции стоит во главе всех регуляторных процессов, обеспечивающих согласованность процессов жизнедеятельности по скорости, времени и месту протекания.

### РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Розен В.Б. Основы эндокринологии. М.: Изд-во МГУ, 1994.
2. Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки. М.: Мир, 1994. Т. 2. С. 338–393.
3. Ткачук В.А. Введение в молекулярную эндокринологию. М.: Изд-во МГУ, 1983.
4. Авдонин П.В., Ткачук В.А. Рецепторы и внутриклеточный кальций. М.: Наука, 1994.

\* \* \*

Всеволод Арсеньевич Ткачук, профессор, член-корреспондент РАН и РАМН, зав. кафедрой биологической и медицинской химии факультета фундаментальной медицины МГУ, руководитель лаборатории молекулярной эндокринологии в Российском кардиологическом центре. Автор 200 статей, двух монографий и одного учебника.